

**ESKİŞEHİR'DE HALKIN TÜKETİMİNE SUNULAN
KIYMALARIN BAKTERİYOLOJİK ANALİZİ**

Buket KUNDUHOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Ana Bilim Dalı

TEMMUZ-1992

ESKİŞEHİR'DE HALKIN TÜKETİMİNE SUNULAN

KIYMALARIN BAKTERİYOLOJİK ANALİZİ

Buket KUNDUHOĞLU

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Genel Biyoloji Bilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Merih KIVANÇ

TEMMUZ-1992

Buket KUNDUHOĞLU'nun YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Eskişehir'de Halkın Tüketimine Sunulan Kıymaların Bakteriyolojik Analizi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye: Doç. Dr. A. Üsame TAMER

Üye: Doç. Dr. Merih KIVANÇ

Üye: Yard. Doç. Dr. Ayşe MERCANGÖZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun... 16. 8. 1997... gün
ve... 318-6... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Rüstem KAYA
Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu araştırma Eskişehir'de halkın tüketimine sunulan kıymaların bakteriyolojik içeriğini ve halk sağlığına uygunluğunu belirlemek ayrıca ülkemiz şartlarına uygun olarak hazırlanacak standartlara kaynak olabilecek veriler elde etmek amacıyla yürütülmüştür.

Kıyma örnekleri şehrin sosyo-ekonomik yönden farklılık gösteren 10 bölgesinden Mayıs 1991-Ocak 1992 tarihleri arasında tesadüfi olarak seçilen kasaplardan alınmıştır. Toplam 90 adet kıyma örneği alınarak total aerobik bakteri sayısı (TABS), psikrofilik bakteri, koliform, *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, *C. perfringens*, fekal *Streptococcus*, maya ve küf sayıları ile *Salmonella-Shigella* bakterileri yönünden incelenmiştir.

Sonuç olarak , Eskişehir'de 10 değişik bölgeden alınan kıyma örneklerinin bakteriyolojik açıdan potansiyel bir tehlikenin varlığı belirlenmiştir. Buna göre ülkemiz koşullarına uygun bakteriyolojik standartların belirlenerek, en kısa zamanda uygulamaya konulması ve bunun takibi için gerekli önlemlerin alınması zorunluluğu ortaya çıkmıştır.

SUMMARY

This study has been undertaken to determine the bacteriological content of the ground beef consumed in Eskişehir and to obtain data that could be used to set ground beef standards according to conditions in our country.

Ground beef samples were collected from May 1991-January 1992, from 10 different meat stores which were chosen randomly socioeconomically different section of the city of Eskişehir. Total of 90 ground beef samples were analyzed for their total aerobic bacteria number, psychrotrophic bacteria, coliform, *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, *C. perfringens*, fecal *Streptococcus*, yeast and mould counts and for the presence of *Salmonella* and *Shigella* bacteria.

As a result, the ground beef samples poor quality and to have various bacteria that are potential health hazard for public. So the proper bacteriological standards for ground beef set and enforced immediately.

TEŐEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde öncelikle yol gösterici düşünce ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Merih KIVANÇ'a teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca araştırma için gerekli ortamı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Yalçın ŐAHİN'e ve Doç. Dr. Süleyman TOKUR'a, örneklerin periyodik olarak alınmasını sağlayan Çevre Sağlığı Müdürü Z.Abidin TURAN'a, anaerob çalışmaların yürütülmesini sağlayan II Kontrol Labaratuvarı Müdürü İskender KARAKOÇ'a ve istatistiksel çalışmaların yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. Hacer ÖZGÜN'e teőekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Et ve Et Ürünlerinde Bulaşma Kaynakları.....	2
1.2. Etin Bileşimi.....	6
1.3. Ette Mikroorganizmaların Neden Olduğu Bozukluklar.....	7
1.4. Ette Bulunabilen Mikroorganizmalar ve Önemi.....	8
2. MATERYAL VE METOD.....	23
2.1. MATERYAL.....	23
2.1.1. Kıyma Örneklerinin Alınması.....	23
2.1.2. Bakteriyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler.....	23
2.2. METOD.....	35
2.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması.....	35
2.2.2. Total Aerobik Bakteri Sayımı.....	35
2.2.3. Psikrofilik Bakteri Sayımı.....	35
2.2.4. Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı.....	35
2.2.5. <i>E. coli</i> Sayımı ve Tanımlanması.....	35
2.2.6. <i>S. aureus</i> Sayımı ve Tanımlanması.....	37
2.2.7. <i>Salmonella</i> ve <i>Shigella</i> Cinsi Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	37
2.2.8. <i>C. perfiringens</i> İzolasyonu ve Tanımlanması.....	39
2.2.9. <i>B. cereus</i> Sayımı ve Tanımlanması.....	40
2.2.10. Fekal Streptokokların Sayımı ve Tanımlanması.....	41
2.2.11. Maya ve Küf Sayımı.....	41
2.2.12. İstatistiksel Analizler.....	41
3. BULGULAR.....	42
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	57
4.1. İncelemeye Alınan Örneklerdeki Mikroorganizma Sayıları, Bölgelere ve Aylara Göre Değişimi.....	57

	<u>Sayfa No</u>
4.1.1. Total Aerobik Bakteri Sayısı.....	57
4.1.2. Psikrofilik Bakteri Sayısı.....	58
4.1.3. Koliform Grubu Bakterilerin Sayısı.....	59
4.1.4. <i>E. coli</i> Sayısı.....	61
4.1.5. <i>S. aureus</i> Sayısı.....	62
4.1.6. <i>Salmonella</i> ve <i>Shigella</i>	63
4.1.7. <i>C. perfringens</i> Sayısı.....	64
4.1.8. <i>B. cereus</i> Sayısı.....	65
4.1.9. Fekal Streptokokların Sayımı.....	65
4.1.10. Maya ve Küf Sayısı.....	66
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa No
3.1., 90 adet kıyma örneğinin, maximum, minimum ve ortalama (geometrik ortalama) mikroorganizma sayıları.....	42
3.2., 1. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	45
3.3., 2. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	46
3.4., 3. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	47
3.5., 4. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	48
3.6., 5. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	49
3.7., 6. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	50
3.8., 7. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	51
3.9., 8. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	52
3.10., 9. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	53
3.11., 10. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.....	54
3.12., Mayıs-Ocak ayları arasında alınan tüm örneklerdeki TABS, psikrofil, koliform ve <i>E. coli</i> 'nin ortalama sayılarının aylara göre değişimi.....	55
3.13., Mayıs-Ocak ayları arasında alınan tüm örneklerdeki <i>B cereus</i> , fekal streptokok, <i>S aureus</i> ve maya-küf sayılarının aylara göre değişimi.....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

SayfaNo

1.1.1., Mezbahalarda belirlenen mikrobiyal bulaşma kaynakları ve mikroorganizma sayıları.....	3
1.1.2., ABD' de ulusal çapta, kasaplardan alınan 1000 kıyma örneğindeki total canlı bakteri ve koliform sayıları.....	4
1.1.3., Hijyenik koşullardaki işletmelerde çekilmiş sığır kıymalarındaki TABS ve bazı bakteri sayıları.....	5
1.4.1., Çeşitli araştırmacıların kıymada yaptıkları çalışmalar.....	9
3.1., 90 adet kıyma örneğinde incelenen mikroorganizmaların genel sayıları ve örneklerdeki dağılımı(%).....	44

1.GİRİŞ

Besin olarak kullanılması insanın varoluşu kadar eskiye dayanan et üzerindeki araştırmalar yeni olup biyolojik değeri yüksek bir protein kaynağı olmasından dolayıda üzerinde çalışılan konulardan biri olmakta devam edecektir (Yücel, 1978).

Yaşadığımız dünyada büyük bir nüfus patlaması süregelmektedir. Fakat dünya üretim hızı nüfus artış hızına ayak uyduramamaktadır. İnsanlık büyük bir savaşın içinde olup bu savaş içinde de özellikle yeteri kadar hayvansal protein alınamaması özel bir önem taşımaktadır. Et, hayvansal proteinlerin büyük bir kısmının kaynağıdır ve beslenmede özel bir yeri bulunmaktadır. Bunun yanında önemli olan diğer bir konuda sağlıklı beslenmektir (Yıldırım, 1978; Yücel, 1978; Göğüş,1986).

Et bütün yararlılığına ve diğer besin maddelerinden üstünlüğüne rağmen elde edilışinden tüketimine kadar uygulanması gereken hijyenik, teknolojik yöntem ve kurallar ihmal edildiğinde maddi kayıplar yanında sağlık yönünden de büyük tehlikelere yol açabilmektedir (Yıldırım, 1978).

Gıda maddelerinin mikrobiyolojik kontrolleri, o gıdanın mikrobiyolojik kalitesini ve sağlık açısından bir sakınca olup olmadığını belirlemektedir. Et ve et ürünlerinin bileşimleri ve teknolojileri çok değişiktir ve bu nedenle ürünler arasındaki mikrobiyolojik kalitede farklı olmaktadır. Gıda maddelerinin mikrobiyolojik kriterlerinin belirlenmesinde aerobik mezofilik toplam canlı, koliform, fekal koliform, *E.coli*, *Salmonella*, *S.aureus*, *C.botulinum*, *C.perfiringens*, Fekal Streptokok, küf ve maya sayıları dikkate alınabilmektedir (Goepfert and Kim, 1975; Emswiler et al. 1976; Shoup and Oblinger, 1976; Westhoff and Feldstein, 1976; Foster et al., 1977; Fruin et al., 1978; Holland; 1979; Tekinşen vd. 1980; Wyat and Guy, 1980; Sarıgöl vd. 1982; Göktan, 1990).

Mikrobiyolojik kriter olarak kullanılacak olan testler ürünün türüne göre değişirsede toplam aerobik bakteri sayısı (TABS), Koliform, *E.coli*, ve *Salmonella* bunların en önemlileridir (Göktan, 1990).

Et ve et ürünlerinin neden olduğu besin zehirlenmeleri daha çok *Salmonella* (Silliker, 1986), *C.perfiringens*, *S.aureus* ve bazende Enteropatojenik *E.coli*'den kaynaklanmaktadır. Bir çok ülkede et ve et

ürünlerinin neden olduğu zehirlenmenin büyük bir kısmını *Salmonella* cinsi bakteriler oluşturmaktadır (Silliker, 1986; Göktan, 1990). Bu nedenle Amerika, Kanada, Almanya, Fransa, İtalya, Yeni Zelanda gibi gıda teknolojisi gelişmiş ülkelerde kıymanın mikrobiyolojik standartları hazırlanmıştır (Carl, 1975; Winslow, 1975; Pivnic at al., 1976; Westhoff and Feldstein, 1976).

Ülkemizde ise kıyma ve benzeri et ürünlerinin mikrobiyolojik standartlarını belirlemek amacıyla çok az çalışma yapılmıştır (Tekinşen vd. 1980).

Kıymalarda bulunmasına izin verilen maximum bakteri sayıları ülkelere, hatta ABD'deki farklı eyaletlere göre değişmektedir.

Bu çalışma Eskişehir'de halkın tüketimine sunulan sığır kıymalarının bakteriyolojik içeriğini ve halk sağlığına uygunluğunu belirlemek ve ülkemiz şartlarına uygun olarak hazırlanacak standartlara kaynak olabilecek verileri belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

1. 1. Et ve Et Ürünlerine Bulaşma Kaynakları:

Et ve et ürünlerin kontaminasyonunda hemen hemen her çeşit bakteri söz konusu olmaktadır (Yücel, 1978 ; Yıldırım, 1984).

Bu günkü bilgilere göre mikroorganizmaların etle teması üç şekilde gerçekleşmektedir: Bunlar; intravitam, intramortem ve postmortem bulaşmalardır.

1. Intravitam bulaşma: Bu tip bulaşmada hayvan daha canlı iken az da olsa bazı bakteriler bağırsak duvarını aşarak organizmaya bulaşması ve bakterilerin kan dolaşımı yoluyla bütün vücuda yayılması şeklinde olmaktadır.

2. Intramortem bulaşma: Kesim sırasında kan damarlarında oluşan basınç farkından dolayı bakterilerin kana geçme işleminin hızlanmasından kaynaklanmaktadır. Kesim sırasında kan dolaşımı devam ettiğinden kesim yarasından emilen bakteriler organizmanın diğer kısımlarına kadar yayılmasıyla olmaktadır (Yıldırım, 1984).

3. Et kalitesi ve hijyeni bakımından en önemli bulaşma şeklini ise postmortem bulaşma teşkil etmektedir. Yüzeysel mikrofloranın kaynağını hayvanların kir ve derileri, iškembe ve bağırsakları oluşturmaktadır. Bunun

dışında mezbaha atmosferinin kontaminasyonu, nakliye ve muhafaza, karkasların parçalanmasında kullanılan aletler, kesim yerlerinin tabanı, kullanılan su, kesim yerinde çalışan kişiler, bunların elleri, elbiseleri, çizmeleri gibi bir çok faktör sonucunda meydana geldiği saptanmıştır Yücel, 1978; Yıldırım, 1984; Gökten, 1990).

Mezbahalardaki kontaminasyon kaynaklarını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, çeşitli yerlerden alınan örneklerde mikroorganizma sayısının yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 1.1.1.).

Çizelge. 1.1.1. Mezbahalarda belirlenen mikrobiyal bulaşma kaynakları ve mikroorganizma sayıları (Lawrie 1976'dan: Gökten, 1990).

Kaynaklar	İnkübasyon Sıcaklığı(C)	Bakteri sayısı	Maya sayısı	Küf sayısı
Post(cm) ²	20	3.3x10 ⁶	580	850
	-1	1.5x10 ⁴	89	89
Yüzeydeki kirler(g/kuru ağırlık)	20	1.1x10 ⁸	5.0x10 ⁴	1.2x10 ⁵
	-1	2.8x10 ⁶	1.4x10 ⁴	1.0x10 ⁴
Dışkı(g/kuru ağırlık)	20	8.0x10 ⁷	2.0x10 ⁵	6.0x10 ⁴
	-1	2.0x10 ⁵	70	1700
İşkembe	20	5.3x10 ⁷	2.0x10 ⁵	1600
	-1	5.2x10 ⁴	50	60
Hava	20	140	-	2
	-1	8	-	0.1
Kesimhane tabanında akan su (max.sayı/ml)	20	1.6x10 ⁵	30	480
	-1	1000	10	50

Eterin yüzeyindeki mikroorganizma sayısının fazla oluşu kesim hijyeni ile doğrudan doğruya ilgili bulunmuştur. Bu nedenle hijyenik önlemlerin önceden alınması gerektiği bildirilmiştir (Yücel, 1978).

Etin yüzeyinde normal olarak bulunan mikroorganizmalar, kıymanın hazırlanması, özellikle çekme ve karıştırma işlemleri sırasında ürünün her tarafına dağılmaktadır. Buda uygun koşullarda mikroorganizmaların

gelişmesine ürünün dayanıklılık süresinin azalmasına ve tüketici sağlığı yönünden potansiyel bir tehlike arz etmesine neden olmaktadır (Nickerson and Sinskey, 1974; Pivnic et al., 1976).

Yapılan bakteriyolojik muayeneler yatar durumda kesilen hayvanlarda etin yüzeyindeki bakteri sayısının asılı durumda kesilenlerden iki kat daha fazla olduğunu göstermiştir (Yücel, 1978).

Yeni kesilmiş sığır gövdesinin ortalama yüzey mikroorganizma sayısı 5×10^3 - 4.7×10^4 /g, enterekok ve proteolitiklerin sayısı 1×10^7 - 1×10^8 /g, psikrotrofların sayısı 1.7×10^6 - 4.5×10^7 /g arasında değiştiği saptanmıştır (Yücel, 1978).

Kniwaller, Meumager, Prandil (1975) adlı araştırmacılar, kesilmiş dana, sığır gövdelerinin yüzeylerinde, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*'ları, *Streptococcus*'ların serolojik D gruplarını ve *Pseudomonas*'ları izole ettiklerini bildirmişlerdir (Yücel, 1978).

ABD'de kasaplardan 50'şer gramlık 1000 adet kıyma örneği alınarak yapılan bir çalışmada çizelge 1.1.2'de verilen sonuçlar gözlenmiştir

Çizelge 1.1.2. ABD'de ulusal çapta, kasaplardan alınan 1000 kıyma örneğindeki Aerobik Canlı bakteri ve Koliform sayıları.(Goepfert, 1976'dan; Göktan, 1990).

Toplam örneklerin %'si	Toplam aerobik bakteri \log_{10} /g	Toplam örneklerin %'si	Koliform sayısı \log_{10} /g
13	<5	8	<1
17	5.0-5.7	41	1-2
10	5.7-6.0	30	2-3
26	6.0-6.7	17	3-4
34	>6.7	4	>4
5	>7.7	-	-

Hijyenik koşullardaki işletmelerde çekilmiş sığır kıymalarındaki toplam canlı ve bazı bakteri sayılarını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmanın sonuçları ve % dağılımı ise Çizelge 1.1.3'de gösterilmiştir

Çizelge 1.1.3. Hijyenik koşullardaki işletmelerde çekilmiş sığır kıymalarındaki toplam canlı ve bazı bakteri sayıları.(Surkiewicz, 1976' dan: Gökten,1990).

Analizler	(log ₁₀ /g) % dağılım						
	<1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7
Aerobik toplam							
canlı	-	-	-	4	16	55	24
Koliform	43	41	9	5	1	-	-
<i>E.coli</i>	59	32	4	4	-	-	-
<i>S.aureus</i>	43	42	12	1	1	-	-

Taze kıymalarda florada *Lactobacillus* cinsi hariç başlıca *Micrococcaceae* ve *Enterobacteriaceae* familyası ile *Pseudomonas* cinsine ait bakteriler bulunmaktadır. Genellikle kıymalarda yüksek olan başlangıç bakteri sayısı (Çizelge 1.1.2.) kıymaların önerilen depolama sıcaklığının üzerinde muhafaza edilmesi durumunda bozulmanın daha da hızlı olmasına neden olduğu bildirilmiştir (Jay, 1970; Gökten, 1990).

1936 yılından önce Almanya'da ortaya çıkan gıda zehirlenmelerinin çoğunluğunun çiğ kıyma yenmesinden kaynaklandığı ileri sürülerek, bu tarihten sonra kıymaların soğutulması ve hazırlandığı gün satılmasını zorunlu kılan düzenlemeler getirilmiştir (Gökten, 1990).

Bakterilerin kendileri yada metabolizma ürünleri besinlerle beraber alındıklarında insanlarda hastalıklara yol açabilmektedir(Yıldırım, 1987).

Gıda enfeksiyonları; etmenin bizzat kendisinin insanlar tarafından alınması ile meydana gelmektedir. Etken alındıktan sonra bağırsaklara gider ve çoğalmaları devam eder ve hücreler parçalandıktan sonra toksinleri serbest kalır. *Salmonella* türleri, *Clostridium perfringens*, Enteropatojenik

E.coli, ve *Vibrio parahaemolyticus* gıda enfeksiyonu yapan mikroorganizmalardır (Yıldırım, 1987).

Gıda intoksikasyonları ise besin maddeleri içinde bulunan mikroorganizmaların toksinlerinin insanlar tarafından alınması sonucu meydana gelmektedir. Gıda intoksikasyonu yapan mikroorganizmalar ise *S. aureus*, *C. botulinum*, *Basillus cereus* ve mikotoksin oluşturan küflerdir (Yıldırım, 1987).

1.2. Etin Bileşimi

Kırmızı et memeli hayvanların kas dokusu olarak tanımlanabilmektedir. Et, sığır, koyun, keçi gibi hayvanların bütün organları ayrıldıktan sonra karkasın yenebilir kısmı olarak düşünülmektedir.

Kas dokusunun %72-75 su, %18.5-21.0 protein, %1.7 si azotlu maddeler ve %0.9-1.0 ise ekstraktif azotsuz maddelerden oluşmaktadır. Azotsuz ekstraktif maddelerin %1-3'ünü lipidler ve %1.0 'ini mineral maddeler ve az miktarda da vitaminler meydana getirmektedir (Jay, 1972; Yıldırım, 1988, Yücel, 1989).

Kasaplık hayvan etleri yağ içermiyorsa bileşimleri büyük farklılık göstermemektedir (Göğüş, 1986; Geopfert, 1976, Yıldırım, 1978,1988).

Kas, miyofibriller proteinler ile sarkoplazmik proteinlerden meydana gelmiştir. Ayrıca özelliğine göre farklı oranlarda yağ içermektedir. pH'sı 7.0 civarındadır. Kasta bulunan yüksek orandaki su miktarı, çeşitli besinler ve gelişmeyi destekleyen faktörlerin bulunuşu birçok mikroorganizmanın üremesini kolaylaştıran bir ortam oluşturmaktadır (Frazier and Westhoff, 1978; Yıldırım, 1988).

Et kıyma haline dönüştürüldüğünde iç kısım hava ile temas ettiğinden aerobik koşullar meydana gelir. Kıyma haline getirilmiş etler, işlenmemiş etlere göre mikrobiyal bozulmaya daha duyarlı hale gelmektedir. Bunun nedenlerinden birisi, kıyma haline getirilen ette hücre suyunun dışarıya çıkması ve mikroorganizmaların bunu kullanabilmesidir. Diğer ise et yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların işlem sırasında kıyma kütesinin her tarafına yayılmasıdır. Bu durum kıymanın iç kısmında da fazla miktarda mikroorganizma bulunmasına neden olmaktadır (Jay, 1970). İyi hijyenik

koşullara sahip olan işletmelerde hazırlanan kıymalar (Çizelge 1.1.2. ve 1.1.3.) genellikle kasap dükkanlarında ve perakende satılan kıymalara göre daha az, ancak karkastakinden daha çok mikroorganizma içerir. Kasap dükkanlarında etlerin parçalanması ve hazırlanması sırasında bulaşma daha fazla olmakta ve özellikle düşük kaliteli etlerin kullanılması mikroorganizma sayısını arttırmaktadır (Jay, 1970; Frazier and Westhoff, 1978).

1.3. Ette Mikroorganizmaların Neden Olduğu Bozukluklar

Mikroorganizmalar ette üremeleri sırasında fermentatif olarak karbonhidrat, yağ ve proteinleri parçalamaktadırlar. Açığa çıkan parçalanma ürünleri ise etin bozulmasına neden olmaktadır (Yıldırım, 1988).

Kıyma haline getirilmiş ette mikroorganizma sayısı çok daha fazla olduğundan bozulma uygun şartlarda çok daha hızlı meydana gelebilmektedir (Jay, 1970).

Taze ette, mikroorganizmaların enzimatik olarak karbonhidratları parçalamaları fazla önem taşımamakta, bu durum et ürünlerinde önemli olmaktadır. Lipolitik bakterilerin neden olduğu parçalanma ancak çok uzun süre depolanan etlerde önem taşımaktadır. Ancak bakterilerin ette yapmış oldukları değişiklikler proteolitik bakterilerce proteinlerin parçalanması sonucu önem kazanmaktadır. Bu durum "etin bozulması" diye adlandırılmaktadır. Bozulma aerob veya anaerob koşullarda olabilmektedir. Proteolitik bakteri grubuna dahil en önemli bakteriler, sporlu bakteriler, *Proteus* grubu bakteriler ve *Enterobacteriaceae* familyasına dahil bakteriler olmaktadır. Bazı psikrofil bakterilerde sahip oldukları proteazlar ile proteinleri parçalamaktadırlar (Jay, 1970; Yıldırım, 1988).

Aminoasitlerin parçalanması, Aminodekarboksilaz enziminin etkisiyle olmakta ve aminoasitler dekarboksile olarak değişik aminoasitler oluşturmaktadır. Bu aminoasitlerin en çok tanınanı ve kokuşma için tipik olanları Ptomin (Ptomaine), Cadavrin (Pentametilen diamin) ve Putrescin'dir (Tetrametilen diamin). Belli aminler intermediyel olarak madde değişimi yapmaktadırlar.

Aromatik aminoasitlerin dekarboksile olması da yine aynı yolla olmakta, örneğin triptofan *E.coli* tarafından triptofanaz tarafından şarap

asitine parçalanarak geriye indol, sirke asiti, skatol veya fenol açığa çıkmaktadır. Bütün bu maddeler bakteriyal bozulmada tipik maddeleri teşkil etmektedir (Yıldırım, 1984).

Kükürt içeren aminoasitlerin parçalanmasında ise H_2S ve merkaptan gelmektedir. Nükleoproteidlerin parçalanmasında ise Purin ve Primidin bazları oluşmaktadır. Bütün bu parçalanma ürünleri alkolik reaksiyonlar gösterdiğinden bozulan etlerde pH'nın yüksek oluşu gözlenmektedir (Chambers et al, 1976).

Et ve et ürünlerinde dış kısımda su daha fazla olduğundan yüzeydeki bakteriler o ürünün içindeki bakterilerden daha çabuk çoğalmakta ve yüzeyde yapışkan bir tabaka oluşmaktadır (Yıldırım, 1984).

Anaerop bozulma etin derin kısımlarında meydana gelmekte, spor yapabilen *Clostridium*'lar tarafından gerçekleştirilmektedir. *Clostridium*'lardan ileri gelen bozulmada, gaz habbelerinin oluşması ve rengin kirli gri oluşu dikkati çekmekte ve tipik bir kadavra kokusu hissedilmektedir.

Bazı koklar ve çubuk şeklindeki bakteriler portakal rengi, mavimsi yeşil pigmentler vermektedirler. Kenarları belirgin beyaz, siyah veya yeşil renkli lekelere bazı mantar ve küf türleri neden olmaktadır (Yıldırım, 1984).

1.4. Ette Bulunabilen Mikroorganizmalar ve Önemi

Daha öncede belirtildiği gibi etin yüzeyi ne kadar büyük olursa bakteri sayısında o oranda fazla olmaktadır. Yüzeyi en fazla olan et ürünü kıymadır bu nedenle de en fazla oranda bakteride kıymada bulunmaktadır (Jay, 1970; Thatcher and Clark, 1973).

Kıymanın bakteriyolojik kalitesinin geliştirilmesi için öncelikle üründe mevcut olan bakterilerin sayıları ve tiplerinin açığa çıkarılması gerekmektedir. Çeşitli ülkelerde özellikle ABD ve Kanada'da sığır kıymasının mikrobiyolojik standartlarını belirlemek amacıyla, ürünün bakteriyolojik kalitesi üzerinde araştırmalar yapılmıştır. ABD, Almanya ve Kanada'da yapılan taramaların sonucunda kıymanın bakteriyolojik kalite ölçütü olarak sayılar belirlenmiştir (Çizelge 1.4.1).

TABS'nın insan sağlığı ve bozulma ile doğrudan bir ilişkisi olmakla beraber sanitasyon koşullarının belirlenmesinde kaba bir ölçü olarak

kullanılmaktadır (Thatcher and Clark, 1973). Kıymalarda yüksek mikrobiyal sayı kısa raf ömrüne neden olmaktadır. Son yıllarda özellikle Kuzey Amerika'da kıymaların bakteriyolojik kriterleri ile ilgili olarak bir çok çalışma yapılmıştır. Önerilen toplam canlı bakteri sayıları $5 \times 10^4/g$ ile $1 \times 10^7/g$ arasına değişmektedir (Yıldırım, 1984).

Eğer et üzerinde uzun süre soğuk depolarda bekletilirse et üzerinde var olan psikrofil aerobik mikroorganizmalar çoğalmaktadır (Nickerson and Sinskey, 1974).

Bu bakteriler daha çok gram negatiftir ve dayanıklı bakterilerdir (Yıldırım, 1984).

Çizelge 1.4.1: Çeşitli araştırmacıların kıymada yaptıkları çalışmalar (Westhoff and Feldstein, 1976; Adelbrecht, 1989).

Ülke	Mikroorganizma sayısı/g					
	TABS $\times 10^6/g$	Koliform /g	Fekal Koliform /g	<i>E.coli</i> /g	Stafilokok /g	Koagülaz + <i>Salmonella</i> <i>S.aureus/g</i>
Georgia	5.0	1000	-	0	500	100
Maryland	10.0	-	50	-	0	-
New York	1.0	-	-	3	-	-
North Dakota	5.0	-	-	50	-	-
Oregon	5.0	-	-	50	-	-
Washington	5.0	-	-	50	-	-
Idaho	3.0	50	-	-	0	-
Rhode Island	1.0	200	-	-	-	-
Utah	3.0	100	-	-	-	-
Virginia	10.0	-	-	100	-	100
Wyoming	1.0	-	-	-	-	-
Brussel	5.0	500	-	-	500	0/25g

Taze et ve et ürünlerinde putrefaktif etken olarak psikrofilik floranın mezofillere oranla daha önem taşıdığı belirtilmiştir (Jay, 1970; Frazier and Westhoff, 1978; Chambers et al 1976).

Fekal bulaşma için indikatör mikroorganizma olarak sık sık koliform bakteriler kullanılmaktadır. Ancak gıda maddelerinde koliformların bulunuşu kesin bir fekal kontaminasyona işaret etmemektedir. Çünkü, koliformların *E.coli* dışındaki üyeleri toprakta, meyve, tahıl ve tarla

bitkilerinin yüzeylelerinde de bulunmaktadır (Mercuri and Cox, 1979). Besin maddelerinde bu bakterinin bulunuşu yakın bir zamandaki fekal bulaşmayı işaret eder. Fekal bulaşmadan emin olmak için 44.5 °C de üreyen *E.coli*'nin kesin olarak saptanmasının gerektiği bildirilmiştir (Jay, 1970; Thatcher and Clark, 1973). *E.coli*'nin bulunuşu diğer patojen bakterilerinde bulunuşunun işaretidir. *E.coli* dışındaki koliformların bulunuşu da yetersiz sanitasyonun işareti olmakta yani hijyen indikatörü olarak ele alınmaktadırlar (Thatcher and Clark, 1973; Gökten, 1990).

Salmonella'ların tamamı patojen olarak kabul edilmektedirler. Genellikle hayvan dışkısıyla etlerin teması sonucunda bulaşmaktadır, tifo ve paratifonun etkenidirler (Jay, 1970). Normal bir insanda hastalık yapabilmesi için 10^4 - 10^6 /g miktarında bulunması gerekmektedir, bu miktar çocuk, hasta ve yaşlı insanlarda daha azdır (Yıldırım, 1984). *Salmonella*'lar bazen et ürünlerinin 1 gramında 10^8 miktarında bulunmasına rağmen ürünün görünüşünde ve kokusunda belirli bir değişiklik meydana getirmediğinden tehlikesi daha da artmaktadır (Yıldırım, 1987). Normal şartlarda saklanan etlerde *Salmonella*'ların çoğalması diğer mikroorganizmalarca engellenebilmektedir (Thatcher and Clark, 1973). *Salmonella*'lar etlerin pişirilmesi sırasında tamamen öldürülmektedir ancak bu durum sero tiplere bağlı olarak değişebilmektedir (Thatcher and Clark, 1973). Bu bakterinin besin maddelerinde bulunmaması önerilmektedir (Jay, 1970; Adelbrecht, 1989).

Shigella'lar ise dizanteri etkenidirler türlere bağlı olarak hastalığın şiddetinde değişiklikler gözlenmektedir. Enfeksiyon dolaylı ve dolaysız fekal kontaminasyon yoluyla olmaktadır. *Shigella*'ların besin maddelerindeki muayenesi mutad olmamakla beraber *Salmonella*'ların aranmasında birlikte değerlendirilmektedir (Thatcher and Clark, 1973).

S.aureus gram + ve koagülaz + tir. Enterotoksin oluşturan Stafilokoklar genellikle hemolitiklidir (Tatini et al., 1976). Bu bakteri gıda maddelerinde enterotoksin oluşturarak gıda zehirlenmeleri meydana getirmektedir. Bu enterotoksin kısa süreli kaynatmalarla yok edilememektedir (Nickerson and Sinskey, 1974; Lewis and Angelotti, 1979). Stafilokokların toksin oluşturmaları için gramda 10^6 - 10^9 sayıda olmaları gerektiği bildirilmiştir (Jay, 1970). *S. aureus* suşlarının bir çoğu koagülaz

oluşturabildikleri halde çok az bir kısmı enterotoksin salgılamaktadır (Thatcher and Clark, 1973). Gramda $5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ adet olduklarında zehirlenme semptomları ortaya çıkabilmektedir (Jay, 1970). Stafilokoklar genellikle insanlar tarafından besinlere bulaştırılmaktadır, bu bakteri insanların burun epitelinde ve epidermis tabakasında bulunmaktadır. Et ve et ürünlerine işçilerin kirli elleri veya hava yolu ile ulaşmaktadır. Bazı besin maddelerinde çok sayıda Stafilokok olsa bile bu mutlaka toksin oluşturacağına bir göstergesi olmamaktadır (Thatcher and Clark, 1973) Çünkü Stafilokoklar ancak uygun koşullarda toksin oluşturabilmekte ve özellikle çiğ ve pişmiş etlerin yüzeyinde oldukça çabuk çoğalıp toksin yapabilmektedirler. En iyi toksin oluşturduğu sıcaklık derecesi ise 40-45 °C olarak bildirilmektedir (Alkış, 1982). Adesiyun (1984), bir çok hazır yiyecekte *S. aureus* enterotoksini izole etmiştir.

Enterokoklar, Lancefield'in D grubu Streptokokları ile *S. faecalis* ve *S. faecium*'u kapsamaktadır. Bu mikroorganizmalarda fekal bulaşmanın indikatörü olarak kabul edilmektedirler. Bunlar memelilerin dışkılarında normal olarak bulunmaktadır. Ancak fekal indikatör olarak çok fazla kullanılmamaktadır. *E. coli* ve Enterokokların bulunuşu arasında iyi bir korelasyon bulunmaktadır. Fekal Streptokokları ihtiva eden besin maddeleri nadiren besin zehirlenmelerinde rol oynamaktadır. Ancak besin maddelerine çok sayıda Enterokok bulunması mikrobiyolojik kalitenin düşük olduğunun ve istenmeyen bakterilerin üreyebileceği bir ortamı işaret etmektedir (Thatcher and Clark, 1973). Semptomlarının görülebilmesi için besin maddesinin gramında bir kaç yüz milyon-milyar olması gerektiği bildirilmektedir (Jay, 1970).

Bacillus türleri de proteolitik olmaları sebebiyle et ve et ürünlerinde önem taşımaktadır. Bacilli ve Clostridia'nın bütün tipleri etlerde bulunabilmektedir (Jay, 1970.)

Bacillus cereus az da olsa besin zehirlenmelerine yol açabilmektedir (Goepfert and Kim, 1971). Zehirlenmenin hangi mekanizma ile olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bakterinin kuvvetli fermentatif özelliği ile gıda maddelerinin kokuşmasına ve bozulmasına yol açtığı belirlenmiştir. Pişmiş proteinli yiyeceklerin nemli ortamda yetersiz derecede soğutulması bu bakterilerin hızla üremesi için uygun bir ortam meydana getirmektedir

(Göktan, 1990). Gramda 10^6 adet mikroorganizma bulunduğu takdirde gıda zehirlenmesi meydana getirebileceği bildirilmiştir (Jay, 1970; Lewis and Angelotti, 1979).

Toplu yemek yenen yerlerde , pişirilmiş gıdanın uzun süre bekletilmesi veya yavaş olarak 15°C ye kadar soğutulması sırasında enterotoksin oluşturulmaktadır (Yıldırım, 1987).

Anaerob bir bakteri olan *C. perfiringens* doğada, toprakta, suda, insan ve hayvan dışkısında ve dolayısıyla kanalizasyon sularında ve pekçok gıdada yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bakterinin en önemli özelliği hücre dışına salınan ve insanlarda gıda zehirlenmesine neden olan enterotoksin üretmesidir. Bu enterotoksinler antijenik gruplarına göre A, B, C, D ve E olmak üzere 5 sereljik tipe ayrılmaktadır ve bunların genellikle A ve C serotipleri insanlarda gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (Jay, 1970).

C. perfiringens'in neden olduğu besin zehirlenmeleri vakalarında yenilen besinde $10^6/\text{g}$ basil olduğu bildirilmiştir (Thatcher and Clark 1973).

Toprakta sayıları $10^3-10^5/\text{g}$ iken sağlıklı insanlarda 0 ve $10^6/\text{g}$ arasında değişebilmektedir. *C. perfiringens* özellikle pişmiş et ürünlerinde toksin oluşturmaktadır. Pişirilme sırasında bu bakterilerin sporları yok edilmemekte veya pişirmeden sonra bir kontaminasyon meydana gelmektedir (Jay, 1970; Lewis and Angelotti, 1979).

Et ve et ürünlerinde bakterilerden başka küf ve mayalar gibi mikroorganizmalar da önemli bir yer tutmaktadır. Küflerin bir çoğu mikotoksin yapmaları ve hatta patojen olmaları nedeniyle önem kazanmaktadır. Ancak etlerdeki bozunmada mayaların küçük bir rolü bulunmaktadır. Bunun nedeni başlangıçtaki popülasyonlarının düşük olması, gelişmelerinin bakterilere göre yavaş olması ve bakteri metabolizması nedeniyle engellenerek onlarla rekabet edememeleri olmaktadır. Ancak mayalar özel koşullar altında oldukça önemli bozulma faktörüdürler. Bozunmaya uğramış birçok yiyecekte mayalar izole edilmiştir (Bryan, 1988).

Küf gelişiminde en önemli faktör uygun nemin bulunuşudur. Yiyeceklerin depolanma sıcaklığı fazla önem taşımamaktadır. Çünkü küfler oldukça geniş bir sıcaklık aralığında gelişerek toksin oluşturabilmektedirler. Eğer et uzun süre dondurma odalarında saklanırsa *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Thamnidium* ile enfekte olabilmektedir. (Nickerson and Sinskey

1974) Ancak küf, gelişmesi, bakterilerin ortamdaki oksijeni kullanmaları nedeniyle ender olarak görülmektedir (Walker, 1977 ; Anderson, 1987)

Et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek amacıyla birçok ülkede ve Türkiye'de çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Surkiewicz et al. (1975), resmi kontrol olarak yaptıkları araştırmada 735 hamburger örneğinde total aerobik bakteri sayısı koliform, *E. coli*, *S. aureus* sayılarını belirlemiştir. Araştırmacılar imalat sırasında örneklerin %76'sında TABS'nın gramda 1×10^6 , %84'ünde koliform sayısının 100 ve daha fazla, *S. aureus* sayısının 100 veya daha az, *E. coli* sayısının 100 ve 100'den daha fazla olduğunu saptamışlardır. 735 örneğin sadece 3'ünden (%0,4) *Salmonella* izole edilmiştir. Sonuç olarak kıymaların et işletmelerinden perakendecilere gelinceye kadar geçirdiği işlemler sonucu (taşıma, çeşitli temaslar, depolama, sıcaklık vs.) mikrobiyal kalitenin düştüğü ve yapım sırasında daha temiz ve hijyenik kurallara uygun çalışılmasının gerektiğini bildirmişlerdir.

Goepfert and Kim (1975) kıymalardaki besin kaynaklı patojenlerin yani *E. coli*, Enterekok, Stafilok, *B. cereus*, *C. perfringens* ile TAB ve psikrofil bakteri sayıları üzerinde sıcaklık ve ambalajlama şekillerinin etkisi incelemiştir. Bahsedilen mikroorganizmalarca belirli oranlarda inoküle edilen kıymalar 1, 4, 5, 7, 12°C'lerde depolanmış ve sonuçta ambalajlama tiplerinin depolama süreci içinde mikroorganizmaların gelişimini yok denecek kadar az etkilediğini belirtmişlerdir. *E. coli*, *Salmonella* ve Enterekokların 12,5°C'de, 14 gün depolama periyodu sonunda sayıları oldukça yükselmiştir. *Salmonella* sayısı 93-24000/g olarak bulunmuştur Ancak araştırmacılar inoküle edilen *Salmonella* sayısının doğal kontaminasyonun çok üzerinde olduğunu ve kıymadaki *Salmonella* kontaminasyonunun frekansının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle de kontamine besinlerin gramında 1'den az *Salmonella* bulunmasını önermişlerdir. *E. coli* ve Enterekoklarda 12,5°C'de hissedilir derecede artış saptanmıştır. *S. aureus*, *C. perfringens*, *B. cereus*, normal depolama koşullarında gelişmemektedirler. Ancak gelişmelerinin engellenmesi için depolama sırasında sıcaklığın minimum gelişme sıcaklığından az olması, etin normal florası ile rekabet edememesi ve vejetatif hücrelerin düşük ısıda canlılıklarını yitirmesi gerekmektedir. Araştırma sonucunda *B. cereus* 100/g,

S.aureus 3200/g, *C.perfiringens* 100/g, *E.coli* 155/g, Enterekok sayısı 4400/g, TABS $2,3 \times 10^5$ /g, psikrofil sayısı $8,7 \times 10^4$ /g olarak tesbit edilmiştir.

Carl (1975) Oregon'da yapmış olduğu bir çalışmada taze ve dondurulmuş etler için standartlar geliştirmiştir. Bu standart limitlerine göre taze ve dondurulmuş etler (kıyma ve parça etlerde dahil olmak üzere) gramında en fazla 5×10^6 TABS'na sahip olmalı, bu limit pişirilmiş etler için 1×10^6 /g dir. *E.coli* için bu standart çiğ etler için 50/g, pişmiş etler için 10/g olarak bildirilmiştir.

Emswiller et al. (1976) depolama süreci içinde kıymaların bakteriyolojik kalitelerinde meydana gelebilecek değişimleri saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, çeşitli et işletmelerinden aldıkları kıymalarda TABS, psikrofil, koliform, *E.coli* *S.aureus* ve *C. perfiringens* sayılarını belirlemişlerdir. Daha sonra da kıymaları $-1,7^\circ\text{C}$ 'de 3, 6, 9, 12, 15 ve 18 gün süre ile depolayıp yine aynı bakteriyolojik işlemlere tabi tutmuşlardır. Sonuçta depolama sırasında TABS ve psikrofilik bakteri sayısında yükselme, koliform ve *E.coli* sayısında azalma meydana gelmesine rağmen *S.aureus* ve *C.perfiringens* sayılarında belirgin bir değişiklik meydana gelmediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçlara göre et işletmeleri ve perakendecilerin taze kıymaları oksijen geçirmeyen bir film ile paketlenerek satışa sunmanın daha yararlı olacağını belirtmişlerdir.

1976 yılında Geopfert 955 sığır kıyması örneği satın alarak yaptığı çalışmada *E.coli*, koliform, sayılarını belirlemiş ve elde ettiği sonuçları Oregon ve New York standartları ile karşılaştırmıştır. Analizler sonucu örneklerin %34'ünde TAB sayısının 35°C 'de 5×10^6 /g, %5'inde ise 5×10^7 /g'i aştığı aynı örneklerde 20°C 'de bu miktarların 10 kat, bazı örneklerde ise 15 kat daha arttığını belirtmiştir. Aynı araştırmada koliform sayısının örneklerin %5'inde gramda 100'den, %4'ün ise 1×10^4 'den fazla olduğu, *E.coli* sayısının ise örneklerin %36'sında 50'den fazla olduğu, bu sonuçlara göre analiz edilen örneklerin %36'sı *E.coli* yönünden Oregon standartlarını geçtiği, New York standartlarına göre ise bu oranın %62'ye çıktığı belirtilmiştir. Araştırmacı çiğ kıymaların sanitasyon ölçüsünü TAB ve *E.coli* sayılarının yansıtabileceğini ve mikrobiyal kalite için bunların bir ölçü olabileceğini bildirmiştir.

Shoup and Oblinger (1976) ABD'nin Florida Eyaletinde yaptıkları

çalışmada fabrikasyon şeklinde çalışan büyük et işletmeleri ile küçük perakendecilerde hazırlanarak pazarlanan kıymaların mikrobiyolojik kalitelerini belirlemişlerdir. Fabrikasyon halinde hazırlanan kıymalarda TABS 35°C'de 10^6 /g, 22°C'de 10^7 /g, *S.aureus* 10^2 /g, total koliform 10^3 - 10^4 /g, *E.coli* sayısı 10^2 /g, maya ve küf 10^2 - 10^3 /g Enterokok 10^3 - 10^4 /g olarak belirlenmiştir. Küçük işletmelerde hazırlanan kıymalarda ise bu sayıların önemli ölçüde farklı olduğu saptanmıştır. Perakendecilerden alınan sonuçlar ise; TABS 35°C'de 10^8 /g'i, 22°C'de 10^9 /g'u *S.aureus* 10^4 /g'u, koliformlar 10^5 /g'i, *E.coli* 10^4 /g'ü aşmıştır, maya-küf 10^5 /g, enterokoklar ise 10^4 - 10^5 /g olarak tesbit edilmiştir. *C. perfringens* ise genellikle çok düşük sayılarda bulunmuştur. 30 örnekte 50/g ve 10 örnekte 400/g gibi sayılarda belirlenmiştir. Fabrikasyon üretim yapan işletmelerde daha az sayıda enterokok tesbit edilmiştir. Örneklerin sadece 1'inden *Salmonella* izole edilmiş ve bunun *S. infantis* olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar kıymada mikrobiyolojik kalite belirlenmesi yapılırken TAB sayısının yalnız başına önemli bir kriter olamayacağını açıklayarak, *S. aureus* suşlarının sıcağa dayanıklı enterotoxin üretmeleri nedeniyle kıymalarda fazla sayıda bulunmaları halinde tehlike yaratabileceğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak büyük işletmelerde hazırlanan kıymaların mikrobiyal kalite yönünden daha iyi durumda olduğu bildirilmiştir.

Westhoff and Feldstein (1976) Maryland kesimhane, et işletmesi ve perakendecilerden alınan 140 kıyma örneğinde ortalama olarak, Koliform sayısını 200/g, *E.coli* 5/g ve TAB sayısını da 28°C'de $7,9 \times 10^6$ /g, 35°C'de ise 2×10^6 /g olarak bildirmişlerdir. Maryland standartlarına göre örneklerin %43'ünde fekal koliform sayısının (50/g) 35°C'deki TAB sayısının örneklerin %18'inin (10^7 /g), 28°C'de ise örneklerin %50'sinin standartları aştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar mikrobiyolojik olarak en düşük kaliteye, perakendecilerden alınan örneklerin sahip olduğu ve bunun etlerin kesimhaneden çıktıktan sonra üzerlerinde pekçok işlem yapılması ve satışa kadar geçen sürenin uzun olmasından ileri geldiğini bildirmişlerdir. Kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için TABS, koliform, fekal koliform, *E.coli*, Stafilokok ve koagülaz pozitif stafilokok'ların kriter olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Perakendecilerden alınan örneklerin, et işleme yerlerinden alınanlara oranla total bakteri ve koliform bakteriler

yönünden daima daha yüksek bulunmuştur ancak aralarında bir korelasyon bulunmamıştır. 28°C'de ve 35°C'de inkübe edilen plaklardaki TAB sayılarında ise az da olsa bir korelasyon gözlenmiş ve hiçbir örnekten *Salmonella* izole edilememiştir.

Pivnic et al. (1976) Kanada'da, dondurulmuş ve dondurulmamış etlerin mikrobiyolojik standartlarını belirlemek amacıyla 218 kıyma örneği toplamış ve 1090 altkültürü üzerinde yaptığı mikrobiyolojik analizler sonucunda 35°C'de inkübe edilen plaklarda örneklerin %87,8'inde TABS'nın $10^6/g$ veya daha az, 21°C'de inkübe edilen örneklerde ise %47'sinde $10^6/g$ veya daha az, örneklerin %60,2'sinde 20/g'nin altında, %37'sinde 1600/g'den fazla fekal koliform, örneklerin %90,7'sinde 100/g'den az, % 0,1'inde ise $10^6/g$ dan fazla *S.aureus*, bulunduğunu ve örneklerin %3,6'sından da *Salmonella* izole ettiğini belirtmiştir. Araştırmacı Kanada için standartları: 35°C'deki TABS'nı $10^7/g$, *E.coli* $10^2/g$, *S.aureus* $10^2/g$ ve *Salmonella* 0/25 g olarak bildirmiştir.

Chambers et al. (1976) tarafından ABD'nin Ohio eyaletindeki çeşitli perakendecilerden alınan 457 kıyma örneğinde TABS'ın $10^6/g$, koliform sayısının $10^3/g$ olduğu tesbit edilmiştir. Süpermarketlerden alınan örneklerde bu sayıların daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmacılar taze etlerin bozulmasında, psikrofilik floranın önemli rol oynadığını ve bunlar içindedir özellikle *Pseudomonas* türlerinin etkin olduğunu bildirerek sanitasyon ve muhafaza sıcaklığına dikkat edilerek daha kaliteli kıyma üretilebileceğini vurgulamışlardır.

Duitschaeffer et al. (1977) taze kıymaların ve dondurulmuş hamburgerlerin bakteriyolojik kalitesini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada analiz edilen 108 kıyma örneğinin %44,4'ünde TABS'nın $5 \times 10^7/g$ 'yi aştığı, %46,3'ünün *S. aureus* ihtiva ettiği ve bunların da %88'inde gramda 1000'i aştığı, örneklerin %39,8'inin *E.coli* ihtiva ettiği ve bunlarında %88,4'ünde gramda 500'den fazla olduğu tesbit edilmiştir. Donmuş hamburgerlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları da kıymalarınkine benzer bulunmuştur. Araştırmacılar analiz sonuçlarına göre bu örneklerin TABS yönünden %44'ünün Kanada ($5 \times 10^7/g$), %90,7'sinin Oregon ($5 \times 10^6/g$) %100'ünün ise New York, Rhode Island, Wyoming, ABD ($1 \times 10^6/g$) eyaletlerinin taze etler için belirlenen standart sınırlarını aştığını ifade etmişlerdir. Örneklerin %44'ünün halk sağlığı açısından endişe verici olduğu

E.coli ve *S.aureus* yönünden ise örneklerin %88'inin kesinlikle tolerans gösterilemeyecek derecede bulunduğunu vurgulamışlardır. Örnekler arasındaki büyük farklılığın nedenlerinin kıyma yapılacak etin kalitesiyle satışa kadar geçen süre içindeki sıcaklık farklılıkları ve uygulanan diğer işlemlere bağlı olabileceği vurgulanmıştır.

Foster et al. (1977) Kaliforniya ABD'de 150 adet kıyma örneği üzerinde araştırma yapmışlardır. TABS nın $6,9 \times 10^4$ ile $8,3 \times 10^7/g$ arasında değiştiği, örneklerin %96,7 sinde koliform, %94,7'sinde *E.coli*, %61,3'ünde *S.aureus* bulunduğu, %99,3'ünde fekal streptokoklara %56'sında ise *C.perfiringens*'e rastlanıldığı ve hiç bir örnekten *Salmonella* izole edilmediği bildirmişlerdir. Bu mikroorganizmaların örneklerdeki ortalama sayıları ise $6,4 \times 10^6/g$, TABS $4,9 \times 10^3/g$ koliform bakteri *E.coli* $1,9 \times 10^3/g$, *S. aureus* $5,7 \times 10^1/g$, fekal streptokok $1,8 \times 10^3/g$, *C. perfiringens* 55/g olarak saptanmıştır. Araştırmacılar *S. aureus*'un soğukta çoğalamadığını ancak yetersiz soğutma ve tuzlama durumlarında sıcağa dayanıklı enterotoksin salgılayabileceklerini ve bununda pişmiş gıdalarda bile tehlikeli olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca çeşitli yörelerde kıyma tüketimi sonucu meydana gelen 9 gıda zehirlenmesi olayından *Salmonella*'ların sorumlu olduğu, dolayısıyla bu mikroorganizmaların gıdalara bulaşması için tedbirlerin alınması gerektiğini vurgulamışlardır. Gerekli standartların tesbit edilerek uygulanmasını üretici ve tüketicinin de bu konuda eğitilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Iran'da pişmiş ve çiğ hamburgerlerin bakteriyolojik kalitesini belirlemek için yapılan bir çalışmada 120'si çiğ olmak üzere toplam 150 örnek analiz edilmiştir. Çiğ örneklerin %17'sinde total aerobik bakteri sayısının, %22'sinde koliform sayısının gramda 1×10^7 'yi aştığı, yine örneklerin %17'sinde stafilokok sayısının gramda 10^3 den fazla olduğu ve bunlarında %37'sinin koagülaz pozitif olduğu saptanmıştır. Mikroorganizma sayısının yüksek oluşunun teknolojik ve hijyenik şartların eksikliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir. (Karim, 1977)

Fruin et al. (1978) Balogna ürünlerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla TAB ve patojen mikroorganizma sayımı yapmıştır. Analize alınan 419 örnekteki TABS $5 \times 10^6/g$ 'dan küçük bulunmuş, *C.perfiringens* ise sadece 3 örnekten (< %1) gramda 5 ya da daha az izole edilmiştir, örneklerin %4'ünden *S.aureus* izole edilmiş ve ancak birtek

örnekte gramda 10^3 den fazla bulunmuştur. Örneklerin %5'i koliform grubu mikroorganizma. içermektedir, 21 örnekte gramda 10'dan az ve 2 örnekte koliform bakteri sayısı gramda 2400 ve 7500 olarak saptanmıştır.

Sumner (1978) tarafından İzmir'de yapılan bir çalışmada, mezbaha perakendeci kasap ve süpermarketlerin hijyenik durumlarını incelemek amacıyla 100 kıyma örneği alınarak TABS, Koliform, Stafilokok ve *Salmonella* yönünden incelenmiştir. Küçük kasaplardan alınan 80 örneğin 16'sı bir saat içinde, 52 tanesi ise ev hanımlarının tüketmeden önce buzdolabında sakladıkları düşünülerek 5°C 'de 48 saat bekletildikten sonra analize alınmıştır. 72 saat 5°C 'de bekletilen diğer örneklerin organoleptik özellikleri kabul edilebilir olmadığından analize alınmamıştır. Süpermarketlerden alınan 20 örnek ise 5°C 'de 24 saat bekletildikten sonra analize alınmıştır. Küçük kasaplardan alınan örneklerdeki TABS başlangıçta 10^5 - 10^7 /g, 5°C 'de 24 saat bekletilen örneklerin, %50 si 10^7 /g den fazla ve 48 saat sonra örneklerin tümü 10^7 - 10^8 /g olarak bulunmuştur. Süpermarketlerden alınan örneklerin tümünde 5°C 'de 24 saat bekletildikten sonraki TABS 10^7 - 10^8 /g bulunmuştur. Küçük kasaplardan alınan örneklerdeki Koliform ve Stafilokok sayısının 10^2 - 10^6 /g arasında değiştiği, süpermarketlerden alınan örneklerde ise bu sayının 10^4 - 10^7 /g olduğu bildirilmiştir. Alınan örneklerin hiçbirinden *Salmonella* izole edilememiştir. Araştırmacı Türkiye'de et imal ve satış yerlerinin çok ilkel yapıda olduğunu ve pirimitiv koşullarda çalışıldığını bildirmiştir. Etin hijyenik kalitesinin hayvan kesiminden satışına kadar geçen süre içindeki gördüğü muamelelere bağlı olarak kalitenin düzelmesi için eğitim ve teknolojik koşulların geliştirilmesinin şart olduğunu belirtmiştir.

Holland (1979) halkın tüketimine sunulan etlerde mikrobiyolojik kriter olarak TABS yada *E.coli* sayısının belirlenmesi gerektiğini vurgulamıştır. TABS 10^7 /g olduğunda etin raf ömrünü % 20-66 oranında kısaltabileceğini belirtmiştir. TABS nın yüksek oluşunun halk sağlığı için potansiyel bir tehlike yaratmamasına rağmen etin üretim şartları hakkında kaba bir tahmin yapılmasını sağladığını belirtmiştir. Yüksek sayıdaki TABS uygun olmayan üretim koşullarını, sanitasyon yetersizliğini ve elle bulaşmayı işaret ettiğini bildirmiştir. *E.coli*'nin fekal kontaminasyonun indikatörü olarak etlerde incelenmesini ve *Salmonella*'nın ise 25 g örnekte

hiç bulunmaması gerektiğini bildirmiştir.

Wyatt and Guy (1980) perakende satılan etlerin mikrobiyolojik kalitesi ile sanitasyon durumları arasındaki korelasyonu tesbit etmek için yaptıkları çalışmada 10 örnek analiz edilmiş ve TABS'nin örneklerini %50'sinde Oregon standartlarını ($5 \times 10^6/g$) aştığı, %20 sinde *E.coli* (50/g) ve % 50 sinde *S. aureus* sayısının (10/g) sınırları aştığını bildirmişlerdir. *C. perfiringens*'in ise sadece 2 kıyma örneğinden 10-100/g olarak izole edildiği ve hiçbir kıyma örneğinde *Salmonella* grubu mikroorganizma izole edilmediğini belirtmişlerdir.

Nwosu 1985'de Awka'daki marketlerde satılan çeşitli etleri (kas, karaciğer, böbrek, kalp ve bağırsak ihtiva eden) toplamış ve toplam 80 adet et örneğini koagülaz pozitif Stafilocoklar yönünden incelenmiştir. 80 örneğinin %67,5'ından koagülaz pozitif Stafilocok izole edilmiştir. Koagülaz pozitif Stafilocoklar kasların %18,8 inden, karaciğerlerin %75'inden, böbreklerin %68,8'inden, kalplerin %75'inden barsakların %100'ünden izole edilmiştir. En az sayıda Stafilocok kaslarda belirlenmiştir. (log. 1.65-2.97/g). En yüksek sayıdaki stafilocok sayısı ise bağırsaklarda olmuştur. (log. 5,88-6,97/g). Diğer organlardaki sayılar ise şu şekilde belirlemiştir: Karaciğerde log 3.1-4.89/g, böbrekte log 3.27-4.75/g, kalpte log 3.15-4.9/g.

Tekinşen vd. (1980) Ankara'da satılan 20 hazır kıyma örneğini toplam canlı bakteri sayısı, psikrofillik bakteri, fekal streptokok, koliform, *E.coli*, *Stafilocok*, *C. perfiringens* sayıları ile *Salmonella* varlığı yönünden incelenmişlerdir. İncelenen örneklerin %65'inde *C. perfiringens* bulunamamıştır. Toplam bakteri ve psikrofilik sayının etin alındığı kaynağa göre farklılık göstermediği ve örneklerin %45'inde toplam bakteri, %37'sinde psikrofilik bakteri sayısı $1 \times 10^7 - 10^8/g$ arasında değişmiştir. Örneklerin %27'sinde psikrofil sayısı $10^8/g$ 'den fazla olmuştur. Fekal streptokok sayısı örneklerin yarısında $1 \times 10^3/g$ dan az olduğu ve hiçbirinde $10^6/g$ dan fazla olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca örneklerdeki stafilocokların $1 \times 10^3/g$ dan, koliformların $1 \times 10^4/g$ dan az olmadığı anlaşılmaktadır. Örneklerin yarısı $1 \times 10^8/g$ den fazla kaliform grubu, %53'ü de $10^5 - 10^6/g$ Stafilocok içerdiği belirlenmiştir. Örneklerin hiçbirinde *Salmonella*'ya rastlanılmadığı bildirilmiş. Son yıllardaki çalışmalar sığır kıymasında TABS'nin $10^7/g$ dan, koliform sayısının $10^3/g$ dan fazla olmasının arzu edilmediğini ortaya

koymuşlardır. Örneklerde *Salmonella* hiç bulunamamış ve *S. aureus* ile *C. perfiringens* ise çok düşük sayıda bulunmuştur oysa psikrofil, koliform ve TABS oldukça yüksektir. Bu durum bu 3 mikroorganizmanın kıymanın doğal mikroflorasıyla etkili bir şekilde rekabet edemediğini ortaya koymuştur.

Araştırmacılar sonuçta örneklerin fazla sayıda genel, psikrofilik, koliform ve fekal streptokok mikroorganizmalarını içermesine karşın kıymanın halk sağlığına bir sakınca teşkil etmeyeceği izlenimi verdiğini bildirmişlerdir. ABD ve Kanada standartlarıyla karşılaştırıldığında Ankara'da üretilen kıymaların bakteriyolojik kalitelerinin saprofit mikroorganizmalar yönünden oldukça kötü olduğu ve saprofit mikroorganizmaların sayılarına dayanan standartlarla halk sağlığının korunmasının yeterli olamayacağını belirtmişlerdir.

Sarıgöl'ün (1982) Elazığ'da yapmış olduğu çalışmada (1982) tüketime sunulan kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* Grubu mikroorganizmalar analiz edilmiştir. *C. perfiringens* inaktive edilen tüplerin %5'inden, inaktive edilmeyen tüplerin %20'sinden izole edilmiştir. Örneklerin %70'inde *Proteus*, %10'unda *Citrobacter*, %5'inde *Salmonella*, %5'inde *Serretia*, yine %5'inde *Shigella*'ya rastlanılmıştır. Sonuçta da bu et ürününün tüketiminin halk sağlığı açısından sakıncalı olabileceği bildirilmiştir.

Ankara'da Akıllı'nın (1983) yaptığı çalışmada ise kıymaların mikrobiyolojik, kimyasal ve serolojik yönden analizleri yapılmıştır. Çeşitli semtlerden alınan 70 kıyma örneğinin analizi sonucunda TABS örneklerde minimum $4.5 \times 10^6/g$, maximum $5.0 \times 10^8/g$ ve ortalama $6.2 \times 10^7/g$ olarak tesbit edilmiştir. Koliform ise örneklerin %5'inde $10^6-10^7/g$ arasında bulunurken hiçbir örnekte *Salmonella*, grubu patojene rastlanılmamıştır. Ülkemizde düşük kaliteli etlerden kıyma yapıldığı ve kıymanın her türlü hileye açık olduğu iddialarının doğruluğu analiz sonuçlarıyla teyid edilmiştir.

Yetim'in Erzurum'da yaptığı çalışmada (1985) Erzurum piyasasında tüketime sunulan sığır kıymalarının bazı saprofit ve bir kısım patojen bakteriler yönünden incelemesi yapılmıştır. $37^\circ C$ 'de yapılan TABS $2,8 \times 10^5 \times 10^8/g$ arasında ve ortalama $2,4 \times 10^7/g$ olarak bulunmuştur. Örneklerin tamamından (%100) koliform, %81,3'ünden *E.coli* izole edilmiş, %38'inde gramda 10^3 den, %45,8'inde gramda 10^5 den fazla koliform

bulunduğu belirlenmiştir. *E.coli* izole edilen örneklerin %97.1'inin gramda 10^2 den, %66.6 sının ise gramda 10^4 den fazla *E.coli* bulunduğu saptanmıştır. Koagülaz pozitif stafilokoklar örneklerin %37.4'ünde gramda 10^3 'den az, %2.1'inde 10^5 den daha fazla olduğu belirlenmiştir. İncelenen örneklerin %2.1'inde *Salmonella paratyphi* ve %6.2 sinden *Shigella flexneri* izole edilmiştir.

Akın ve Kaya'nın (1988) Ankara'da yaptığı çalışmada, alınan kıyma örneklerinin hijyenik kalite kontrolleri üzerinde durulmuş ve hijyenik kalite indikatörü olan bakteriler ile besin enfeksiyon ve intoksikasyonlarına neden olan etiyolojik ajanlar kullanılmıştır. Alınan kıyma örneklerinde TABS'nın 7×10^5 - 4×10^8 /g, koliform grubu mikroorganizmaların 10^3 - 6×10^5 /g, fekal streptokokların 3×10^2 - 10^6 /g *E.coli*'nin 0,3-240/g, *S. aureus*'un 10^4 - 7×10^6 /g olduğu saptanmıştır. Numunelerin %24'ünde *S. aureus*, %4'ünde koliform grubu mikroorganizmaya rastlanmamıştır. Örneklerin hiçbirinde *Salmonella* bulunmamıştır.

Başığmez'in (1988) Bursa piyasasında satılan et ve bazı et ürünlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek üzere yaptığı çalışmada 10 gövde eti ve 13 kıyma numunesi alınmıştır. Gövde etinin bakteriyolojik analizi sonucunda TABS 8×10^2 - 6.1×10^7 /g ortalama 7.7×10^4 /g, koliform bakteri sayısı 0- 1.3×10^3 /g ortalama 4.4×10^2 /g olarak bulunmuştur. Örneklerin hiçbirinde *Salmonella*'ya rastlanılmamış, %20'sinde *E.coli* saptanmıştır. Kıymalarda yapılan çalışmada ise toplam bakteri sayısı 2.5×10^4 /g ile 2.0×10^8 /g arasında değişmiş olup, ortalama 1.7×10^7 /g olmuştur. Koliform bakteri sayısı 0- 1.3×10^7 /g arasında değişmiş ve ortalaması 1.1×10^6 /g bildirilmiştir. Örneklerin hiçbirinde *Salmonella*'ya rastlanmamasına karşılık %46,5'inde *E.coli* saptanmıştır.

Göktan ve Tuncel 1988'de yaptıkları çalışmada özel bir Türk yemeği olan çiğköftede *Salmonella typhimurium*'un gelişimini incelemiştirlerdir. Bu bakteri ile inoküle edilen etle çiğköfte hazırlanarak örnekler aralıklarla analize tabi tutulmuştur. Bu çalışmada bileşime giren maddelerin etkisi, hazırlama şekli, total canlı mikroorganizma , *S. aureus*, koliform ve *Salmonella* sayımı yapılmıştır. Lokal kasaplardan alınan 400 g yağsız kıyma 100 g'lık 4 eşit parçaya ayrılarak, birinci porsiyonu başlangıçtaki total bakteri, koliform, *S. aureus*, *Salmonella* sayımı için kullanılmış, diğer 3

porsiyonu ise değişik derecelerde *Salmonella* ile inoküle edilmiştir. Bir porsiyon ise, kontrol olarak saklanmıştır. Köfteler oda sıcaklığında 4 saat bırakıldıktan sonra incelemeye alınmıştır. 1. örnekte eklenen *Salmonella* sayısı başlangıçta oldukça düşmüştür fakat daha sonra sabit kalmıştır. $1,6 \times 10^5/g$ olan *Salmonella* sayısı $4,0 \times 10^4/g$ 'e inmiştir. 2. örnekte $8,3 \times 10^5/g$ olan başlangıçtaki sayı ilk yarım saatte $4,0 \times 10^4/g$ inmiştir. Kontrolde ise $4,6 \times 10^5/g$ olan *Salmonella* sayısı MPN prosedürüne göre sayılmış ve $4,0 \times 10^5/g$ olarak bulunmuştur.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kıyma örneklerinin alınması

Örnekler Mayıs 1991 ve Ocak 1992 tarihleri arasında Eskişehir piyasasında tüketime sunulan kıymalardan toplam 90 adet alınarak bakteriyolojik analizleri yapılmıştır. Örnekler şehrin sosyo-ekonomik yönden farklılık gösteren 10 bölgesinden ve perakendeci kasaplardan alınmıştır. 250'şer g. olarak alınan örnekler steril cam kavanozlara konarak kapatılmış, etiketlenmiş ve içinde buz kalıbı bulunan kaplara konarak aynı gün analize alınmıştır (Nickerson and Sinskey, 1974).

2.1.2. Kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler

BESİYERLERİ

BAIRD PARKER AGAR(BPM)

Tripton	10 g/l
Beef extrat	5 g/l
Yeast extrat	1 g/l
Lityum klorit	5 g/l
Sodyum sülfamezathine	0.055 g/l
Agar	20 g/l

Son pH'sı 6.8-7 olacak şekilde tampone edilerek 121°C'de 15dk. steril edilmiştir.

BİZMUT SÜLFİT AGAR(BSA)

Beef extrat	5 g/l
Pepton	10 g/l
Glükoz	5 g/l
Sodyum monohidrojen fosfat	4 g/l
Ferrous sülfat	0.3 g/l
Bizmut sülfid indikatörü	8 g/l
Birillant green	0.0025 g/l
Agar	20 g/l

Distile su ile ısıtılarak eritilir, 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra peri kutularına dökülerek dondurulmuş ve yüzeyleri kurutulduktan sonra kullanılmıştır.

COOKED MEAT MEDIUM

Sığır kalbi veya karaciğeri	454 g/l
Pepton	20 g/l
Glukoz	2 g/l
NaCl	5 g/l

DESOXYLAT SİTRAT AGAR(DSA)

Beef extrat	5 g/l
Proteoz pepton	5 g/l
Laktoz	10 g/l
Sodyum sitrat	8.5 g/l
Sodyum tiyosülfat	5.4 g/l
Ferrik sitrat	1 g/l
Sodyum desoxkolat	5 g/l
Nötral red	0.02 g/l
Agar	12 g/l

Distile su ile ısıtılarak eritilir, 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra peri kutularına dökülerek dondurulmuş ve yüzeyleri kurutulduktan sonra kullanılmıştır.

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda ısıtılır. Soğutulur ve otolavdan çıktıktan sonra pH'sı 7 olacak şekilde tampone edilir.

E.C. BROT

Triptoz	20 g/l
Laktoz	5 g/l
Bile salts No 3	1.5 g/l
Potasyum monohidrojen fosfat	4 g/l
Potasyum dihidrojen fosfat	1.5 g/l
NaCl	5 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek tüplere dağıtılır, içlerine dührham tüpleri konarak 121°C'de 10 dakika steril edilir, son pH 7 olmalıdır.

EOZİN METİLEN BLUE AGAR(EMB)

Pepton	10 g/l
Laktoz	10 g/l
Sukroz	5 g/l
Potasyum monohidrojen fosfat	2 g/l
Eosin Y	0.4 g/l
Metilen blue	0.063 g/l
Agar	15 g/l

121°C'de 15 dakika steril edilir, petri kutularına dökülerek dondurulmuş ve yüzeyleri kurutularak kullanılmıştır

GILLES MEDYUM I

Proteoz pepton	15 g/l
Yeast extrat	2 g/l
Beef extrat	2 g/l
Glükoz	1 g/l
Mannitol	10 g/l
Brom timol blue	0.025 g/l
Cresol red	0.008 g/l
Agar	16 g/l
Üre	10 g/l

Üre hariç tüm diğer maddeler distile suda eritilerek kaynatılır, pH otoklavdan sonra 7.2 olacak şekilde ayarlanır. 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra besiyerine, filtrasyonla steril edilmiş %20'lik üre solusyonundan 50 ml ilave edilmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra tüplerde dik veya yatık olarak dondurulur.

GLİKOZLU FOSFATLI BUYYON(MR-VP BROT)

Proteose pepton	5 g/l
Glükoz	5 g/l
Potasyum monohidrojen fosfat	5 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilir, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15dk. steril edilir.

KANLI AGAR

Beef extrat	3 g
Pepton	5 g

NaCl 8 g

Agar 15 g

Yukardaki maddeler 500 ml distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra, son pH'sı 7.3 olacak şekilde tamponlanarak otoklavlanmış, 50°C'ye kadar soğutulmuş ve içine %5 oranında sitratlı insan kanı eklenerek iyice karıştırıldıktan sonra petri kutularına dağıtılarak plakların yüzleri kurutulmuştur.

LAKTOZ BROT

Beef extrat 3 g/l

Pepton 5 g/l

Laktoz 5 g/l

1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 6.9 olacak şekilde tamponlanmış ve otoklavlanmış 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

LAKTOZ JELATİN

Triptoz 15 g/l

Yeast extrat 10 g/l

Laktoz 10 g/l

Disodyum fosfat 5 g/l

Fenol red 0.05 g/l

Jelatin 120 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra, son pH'sı 7.5 olacak şekilde tamponlanmıştır, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

MOTİLYTY NİTRATE MEDIUM (NİTRAT-HAREKETLİLİKORTAMI)

Beef extrat 3 g/l

Pepton 5 g/l

Potasyum nitrat 1 g/l

Agar 3 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

NİTRAT BROT

Tripton 20 g/l

Sodyum monohidrojen fosfat 2 g/l

Glükoz	1 g/l
Potasyum nitrat	1 g/l
Agar	1 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

NIŞASTA AGAR

Beef extrat	3 g/l
Pepton	5 g/l
Soluble nişasta	2 g/l
Agar	15 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır, 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

NÜTRİENT AGAR

Beef extrat	3 g/l
Pepton	5 g/l
Agar	15 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

NÜTRİENT JELATİN

Beef extrat	3 g/l
Pepton	5 g/l
Jelatin	120 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

POTATO DEXTROSE AGAR(PDA)

Potato extrat	4 g/l
Glükoz	20 g/l
Agar	15 g/l

Tüm malzeme 1 litre distile suda eritilerek kaynatıldıktan sonra, son pH'sı 5.5 olacak şekilde tamponlanmıştır, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15

dakika otoklavlanmıştır

PARKER'S CRYSTAL-VIOLET AZIDE BLOOD AGAR

Triptoz	15 g/l
Beef extrat	3 g/l
NaCl	5 g/l
Agar	30 g/l
Defibrine insan kanı	50ml
Kristal violet	0.002g/l
Sodyum azid	0.5 g/l

Sodyum azid, kristal violet ve kan hariç tüm malzeme 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanarak, 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra:

-%5 oranında kan,

-Kristal violetin sudaki %0.05'lik solusyonundan 4ml/l (Kristal violetin solusyonu 121°C'de 20 steril edilip 1-5°C'de bekletilmelidir),

-Sodyum azidin sudaki %5'lik solusyonundan 10ml/l (filtrasyonla steril edilmiş) ilave edilerek kullanılmıştır.

PEPTONLU SU

Pepton	10 g/l
NaCl	5 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra pH'sı 7.2 olacak şekilde tamponlanmıştır, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

PHENOL RED EGG YOLK POYMYXIN AGAR

Meat extrat	1 g/l
Pepton	10 g/l
d-mannitol	10 g/l
NaCl	5 g/l

Egg yolk ve polimiksin B hariç yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7.2 olacak şekilde tamponlanmıştır, 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra içine 10ml egg-yolk emülsiyonu konmuş ve daha sonrada polimiksin B'nin filtrasyonla steril edilmiş olan%0.1'lik solusyonundan eklenerek hazırlanmış, petri kutularına dökülülerek dondurulmuş ve yüzeyleri kurutulduktan sonra

kullanılmıştır.

PLATE COUNT AGAR

Tripton	5 g/l
Glükoz	1 g/l
Yeast extrat	2.5 g/l
Agar	15 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra 45°C'ye kadar soğutulmuş son pH'sı 7.2 olacak şekilde tamponlanmıştır, 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

SALMONELLA-SHİGELLA AGAR

Beef extrat	5 g/l
Pepton	5 g/l
Laktoz	10 g/l
Bile salts	8.5 g/l
Sodyum sitrat	8.5 g/l
Sodyum tiyosülfat	8.5 g/l
Ferrik sitrat	1 g/l
Agar	13.5 g/l
Brillant green	0.00033 g/l
Nötral red	0.025 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra, 45-50°C'ye kadar soğutulmuş petri kutularına dökülerek yüzeyleri kurutularak kullanılmıştır.

SIMMONS SİTRAT AGAR

Magnesium sulfat heptahidrat	0.2 g/l
Amonyum dihidrojen fosfat	1 g/l
Potasyum monohidrojen fosfat	1 g/l
Sodyum sitrat dihidrat	2 g/l
NaCl	5 g/l
Brom timol blue	0.08 g/l
Agar	15 g/l

1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış ve tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

SPORLANMA ORTAMI

Triptikas	20g/l
Vitaminsiz kasamino asit	20g/l
Sodyum tiyoglikolat	1g/l

1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra kapaklı tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Kullanmadan hemen önce 1 ml, daha önce filtrasyonla steril edilmiş tiyamin hidroklorit'in sudaki solusyonundan(10 mikrogram/ml) ilave edilmiştir.

SULPHİTE POLMYXIN SULPHADIAZINE AGAR(SPS)

Tripton	15g/l
Yeast extrat	10g/l
Iron sitrat	0.5g/l
Agar	15g/l

pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

TETRATİYONAT BROT

Triptoz	5g/l
Bile salts	1g/l
Kalsiyum karbonat	10g/l
Sodyum tiyosülfat	30g/l

1 litre distile suda eritilerek, otoklavlandıktan sonra pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış ve tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

İyot solüsyonu

Potasyum iyodür	5g/l
Iodine	6g/l

20 ml steril distile su içinde çözülür ve karanlıkta muhafaza edilir. Besiyerine %2 oranında ilave edilir.

THIOGLYKOLAT MEDYUM

Triptikaz	15g/l
l-cistin	0.5g/l
Glükoz	5g/l
NaCl	2.5g/l
Sodyum tiyoglikollat	0.5g/l

Yeast extrat	5 g/l
Resazurin	0.001g/l
Agar	0.75g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır, tüplere dağıtılmadan önce 0.1g kalsiyum karbonat ilave edilmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

TRIPLE SUGAR IRON(TSI)

Tripton	20g/l
NaCl	5g/l
Laktoz	10g/l
Sukroz	10g/l
Glükoz	1g/l
Ferrous ammonium sülfat	0.2g/l
Sodyum tiyosülfat	0.2g/l
Fenol red	0.025g/l
Agar	13g/l

1 litre distile suda eritilerek, otoklavlandıktan sonra son pH'sı 7.3 olacak şekilde tamponlanmış ve tüplere dağıtılarak 121°C'de 12 dakika otoklavlanmıştır. Tüpler yatık olarak dondurulur.

TRIPTON BROT

Tripton	10g/l
---------	-------

Tripton 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış, tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

TRIPTOZ AGAR

Triptoz	10g/l
Glükoz	1g/l
NaCl	5g/l
Agar	15g/l
Thiamin hidroklorit	0.005g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmış, yatık durumda dondurularak kullanılmıştır.

TRİPTOZ BROT (pH 9.6)

Triptoz	10 g/l
Glükoz	1 g/l
NaCl	5 g/l
Thiamin hidroklorit	0.005 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra pH'sı 9.6 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

TRİPTOZ SALT BROT(%6.5)

Triptoz	10 g/l
Glükoz	1 g/l
NaCl	65 g/l
Thiamin hidroklorit	0.005 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra, son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmıştır,tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

TRİPTOZ TTC AGAR

Triptoz	10 g/l
Glükoz	1 g/l
NaCl	15 g/l
Thiamin hidroklorit	0.005 g/l
Triphenol tetrazolium chloride	0.005 g/l

1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış ve tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

VIOLET RED BILE AGAR(VRBA)

Yeast extrat	3 g/l
Pepton	7 g/l
NaCl	5 g/l
Bile salts No:3	1.5 g/l
Laktoz	10 g/l
Nötral red	0.03 g/l
Kristal violet	0.002 g/l
Agar	15 g/l

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, kaynatıldıktan sonra, son pH'sı 7 olacak şekilde tamponlanmış ve 121° C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

KİMYASAL MADDELER

GRAM BOYAMA MALZEMELERİ

Kristal viole solusyonu

Kristal viole	2 g
Etil alkol(%95)	20ml
Amonyum oxalat	0.8g
Distile su	80ml

Tüm malzeme distile su içinde çözündürülerek kullanılır.

İyot solüsyonu

İyot	1 g
Potasyum iyodür	2 g
Distile su	300ml

Potasyum iyodür ve iyot distile su ile karıştırılarak çözündürülür.

Safranin solüsyonu

Safranin	0.25g
Etanol	10ml
Distile su	100ml

Safranin etanolde çözülür, distile su ile karıştırılarak filtre kağıdından süzülür.

METİL RED SOLÜSYONU

Metil red	0.1g
Etil alkol(%95)	300ml
Distile su	200ml

Metil red etil alkolde çözündürülür ve üzerine distile su ilave edilir.

α-NAFTOL SOLÜSYONU

α-Naftol	5 g
Etil alkol(absolu)	100ml

Naftol alkolde eritilerek hazırlanır

α-NAFTİL AMİN SOLÜSYONU

α-Naftil amin	0.5g
---------------	------

5N asetik asit(1 kısım glasiyal
asetik asit, 2.5 kısım su) 100ml

α -Naftil amin asitte çözündürülerek hazırlanır.

SÜLFANILIK ASİT ÇÖZELTİSİ

Sülfanilik asit 1g

5N asetik asit(1 kısım glasiyal
asetik asit, 2.5 kısım su) 125ml

Sülfanilik asit asetik asit içinde çözündürülerek hazırlanır.

KOVAKS AYIRACI

Paradimetilaminobenzaldehit 5g

İzoamil alkol 75ml

HCl(Konsantre) 25ml

Paradimetilaminobenzaldehit alkolde çözülür, sonra HCl'dökülerek karıştırılır.

%40'lık KOH ÇÖZELTİSİ

KOH 40g

Kreatin 0.3g

Distile su 100ml

KOH distile suda çözülür daha sonra Kreatin ilave edilerek hazırlanmıştır.

FİZYOLOJİK TUZLU SU ÇÖZELTİSİ

NaCl 85g

1 litre distile suda çözülerek hazırlanır.

2.2. METOD

2.2.1. Örneklerin analize hazırlanması

Sıvı olmayan besin maddelerinin iç kısımlarına veya yüzeylerine yerleşmiş bulunmaları nedeniyle, mikroorganizmalarının sıvı besiyerine geçmelerini sağlamak amacıyla parçalama ve karıştırma işlemini bir arada yürüten blender kullanılmıştır. Blender kavanozları 121°C'de 15 dk. steril edilmiştir. Blender kavanozlarının darası alınarak, örneklerden 50'şer gram aseptik şartlarda tartılmıştır. Daha sonra blendere 450 ml %0,1'lik peptonlu dilüsyon sıvısı ilave edilmiştir. Önce alçak devirde sonrada yüksek devirde 2 dk. karıştırılarak 10⁻¹'lik dilüsyon hazırlanmıştır (Thatcher and Clark, 1973; Nickerson and Sinskey, 1974). Daha sonra 10⁻⁹'a kadar dilüsyon serisi hazırlanmıştır.

2.2.2. Total aerobik bakteri sayımı

Homojenize edilen örneklerin 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹ luk dilüsyonlarından çift petri kutusuna ekim yapılmış üzerine 44,5°C'ya kadar soğutulmuş 15 ml steril (121°C, 15 dk) Plate Count Agar (PCA, Difco) ilave edilmiştir. 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. 30-300 koloni ihtiva eden plaklar sayılarak örneğin gramındaki bakteri sayısı belirlenmiştir. (Nickerson and Sinskey, 1974).

2.2.3. Psikrofilik bakteri sayımı

10⁻⁵ ve 10⁻⁶ luk dilüsyonlardan çift, petri kutusuna birer ml konarak üzerlerine, steril PCA ilave edilmiş 6°C'de 10 gün inkübe edilerek plaklar değerlendirilmiştir (Gilliland et al., 1976).

2.2.4. Koliform grubu bakterilerin sayımı

Bunun için Violet Red Bile Agar (Difco) kullanılmıştır. Plaklar, 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Çapı 0,5 mm'den büyük olan koyu kırmızı renkteki koloniler koliform olarak değerlendirilmiştir. (Nickerson and Sinskey, 1974; Fishbein et al, 1976; Cyzeska et al., 1981)

2.2.5. *Escherichia coli* sayımı ve tanımlanması

Bunun için EC buyyonlu (Difco) ve dürham tüplü deney tüplerine

VRBA daki tipik 5 koloni seçilerek aynı sayıdaki EC buyyon tüplerine inoküle edilmiştir. 44,5°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Üreme gaz oluşumu yönünden değerlendirilerek Kuvvetle Muhtemel Sayı (MPN) olarak bakteri sayısı belirlenmiştir.

Bu sayı *E. coli* + tüp sayısı ile koliform sayısının çarpımının toplam tüp sayısına bölümü ile elde edilmiştir. EC buyyonda laktozu gaz oluşturarak fermente eden suşlar muhtemel *E. coli* olarak belirlenmiştir (Nickerson and Sinskey, 1974)

Sonra, E.C.+ tüplerden Eosine Metilen Blue (EMB, Oxoid) Agar plaklarına çizgi ekim yapılmış ve 35-37°C'de 24 saat inkübasyon sonunda laktozu kullanarak siyaha yakın koloniler ile ışıkta yeşilimsi refle veren koloniler tesbit edilmiştir. Bu kolonilerin *E. coli* olup olmadığının belirlenmesi için biyokimyasal testlere geçilmiştir (Fishbein et al, 1976). Bunun için EMB agardaki tipik kolonilerden TSI (Gibco) ve Nütrient (Gibco) yatık agarına ekim yapılarak 35-37°C'de inkübe edilmiştir. Şekerlerin kullanılarak besiyerinin renginin kırmızıdan sarıya dönüşü pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bundan sonra IMVIC testleri uygulanmıştır

Indol Testi: Bunun için triptofanlı sıvı besiyerine (Difco) ekim yapılarak 35-37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda tüplere birkaç ml Kovaks ayırıcı damlatılarak tüp yüzeyinde kırmızı bir renk tabakasının oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

MR-VP Testi: Bunun için glikozlu ve fosfatlı besiyeri (MR-VP Broth, (Gibco) kullanılmıştır. İnkübasyon 35-37°C'de 2-7 gün yapılmıştır.

Metil red testi için, metil kırmızısı çözeltisinden inkübe edilen kültür üzerine 5 damla damlatılarak kırmızı rengin sabit kalması pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

Voges-Proskauer testi: Bunun için kültürden diğer bir tüpe 5 ml alınarak üzerine 3 ml %5 lik naftol ve 1 ml %40 lık KOH çözeltisi ilave edilmiştir. Sonuçta pembe renk oluşması bu test için pozitif olarak kabul edilmiştir.

Sitrat Testi: Simmons Sitrat (Oxoid) yatık agarına ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ortamın renginin yeşilden maviye dönüşü sitratın karbon kaynağı olarak kullanıldığını belirlemiştir.

IMVIC Testleri sonunda + + - - veya - + - - şeklinde biyokimyasal özellik göstermiş olan şuşlar *E. coli* olarak tanımlanmıştır. (Thatcher and Clark, 1973)

2.2.6. *Staphylococcus aureus* sayımı ve tanımlanması

Bunun için Baird Parker Agar (BPM, Gibco) plakları 15'er ml petri kutularına dökülmüş ve yüzeyleri kurutulmuştur. Uygun dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak steril cam çubuklarla tüm yüzeye yayılması sağlanarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

Inkübasyon sonunda altın sarısı rengindeki koloniler sayılarak bu tipik kolonilerden belli sayıda alınarak koagülaz testi uygulanmıştır. Bunun için sitratlı insan kanı plazması kullanılmıştır. Lam yöntemiyle yapılan testte lam ikiye bölünerek iki bölmeye birer öze fizyolojik tuzlu su, konarak iki bölümden birine yine öze ile 18-24 saatlik nütrient agar kültürü ilave edilip emülsiyon yapılmıştır. Her iki bölmeye birer damla insan plazması konulup 5 sn karıştırılmış kültürlü bölmede koagülaz gözlenmesi pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. (Sperber and Tatini.,1975) Koagülaz pozitif olan *S. aureus*'ların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi için ise %5 kan ihtiva eden Nütrient agarlı plaklara çizgi ekim yöntemiyle ekim yapılmış 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Çoğalan koloniler etrafında şeffaf bir zonun varlığı (β hemoliz) pozitif olarak kabul edilmiştir.

S. aureus'un katalaz aktivitesi de %3 lük H_2O_2 çözeltisi ile belirlenmiştir (Thatcher and Clark, 1974).

2.2.7. *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerin İzolasyonu ve tanımlanması:

Bunun için 25 gr. örnek 225 ml %5'lik Laktoz Broth (Difco) ile blenderde 2-3 dk düşük devirde homojenize edilmiştir. Bu homojenat 35°C de 24 saat inkübe edilerek bir ön zenginleştirme kültürü elde edilmiştir. Bu kültürden seçici zenginleştirme besiyeri olan tetraiyonat (Difco) brota (10 ml'ye 0,2 ml iyot solusyonu ilave edilmiş) l'er ml eklenerek ve 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda her bir kültürden öze ile Desoksilat Sitrate Agar (DSA, Oxoid) Bizmut Sulfit Agar (BSA, Oxoid) ve Salmonella Shigella (SSA, Oxoid) Agar plaklarına çizgi ekim yapılmıştır. DSA ve SSA

37°C'de 24 saat, BSA 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

DSA'da *Salmonella* 1.2 mm çapında renksiz, hafifçe mat ve ortası siyah noktalı, *Shigella* ise renksiz, soluk pembe, 1 mm çapında ve kubbeli koloniler oluşturmuştur.

SSA'da *Salmonella*; renksiz, opak, soluk pembe, şeffaf ve bazan merkezi siyah noktalı *Shigella*; mat opak veya şeffaf koloniler meydana getirmektedirler (Jay, 1970)

BSA'da ise *Salmonella*; siyah, kahverengi kuşaklı ışıkta metalik renk veren veya açık yeşil kolonilerdir. *Shigella*'ların birçok suşu bu ortamda gelişemezler. *S. flexneri* ve *S. boydii* gelişebilmektedir (Jay, 1970).

İnkübasyon sonunda eğer tarif edilen koloniler oluşmuş ise bunlar nütrient ve TSI (Triple Sugar Iron) yatık ağarına pasaj yapılmıştır. 35°C'de 24 saat inkübe edilir. Yatık yüzeyde alkali (kırmızı), dipte ise asit (sarı) reaksiyon veren ve H₂S oluşturan (siyah rengin meydana gelişi) şuşlar *Salmonella* pozitif olarak kabul edilmiştir. Kültürlerin saflığını kontrol için gram metodu ile boyama yapılmıştır.

Saf kültürlerle (TSI pozitif) indol ve üreaz testi uygulanmıştır. Üreaz testi için yatık Gilles Besiyeri 1 (Speck, 1976) kullanılmıştır. Saf kültürden bu besiyerinin batık ve yatık kısımlarına ekim yapılmıştır. 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Besiyerindeki glikoz ve mannitolun fermentasyonu dip kısmın sararması ve üreaz reaksiyonu basiyerinin rengini koyu mora çevirmesi ile karakteristiktir. *Salmonellalar* üreaz negatiftir ancak glikoz ve mannitolü gaz meydana getirerek veya getirmeden fermente etmektedirler. Üreaz pozitif, glikoz ve mannitolü fermente etmeyen kültürler *Salmonella* yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

Sonuçta TSI + , Indol ve üre - olan şuşların cinslerini tayin etmek için serolojik testlere başvurulmuştur. Bunun için Polivalent O antiserumları (Gibco) kullanılarak *Salmonella* ve *Shigella* cinsleri ayrılmıştır.

Bu test için stok nutrient yatık agar kültürlerinden 1 koloni alınmış ve 1 damla serum fizyolojik ile lam üzerinde süspansiyon haline getirilmiş ve üzerine antiserumlar damlatılarak aglütinasyon reaksiyonu gözlenmiştir. (Edwards and Ewing, 1966; Thatcher and Clark, 1973 ; D'aoust, 1984; Fricker, 1987; Lammerding et al, 1988).

2.2.8. *C. perfiringens* sayımı ve tanımlanması

10⁻¹ ve 10⁻² lik dilusyonlardan çift petri kutusuna 1'er ml ekim yapılarak. Üzerine 45°C'ye kadar soğutulmuş Sulfat Polimixin Sulfadiazin agar (SPS, Oxoid) ilave edilmiştir. Plaklar donduktan sonra ters çevrilerek anaerobik jarda (CO₂ ve N₂ gaz karışımı ile vakumlanmış) 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 30-300 arasında kurşunu-siyah koloniler sayılmıştır. Plaklardan 5 tipik koloni seçilerek herbiri thioglycholate besiyeri bulunan tüplere inoküle edilmiştir. Bu tüpler 46°C'lik su banyosunda 3-4 saat inkübe edilmiştir. Üremenin saf olup olmadığının kontrolü için gram boyama yapılmıştır. Mikroorganizmalar iri gram pozitif terminal yada subterminal sporlu ve uçları küt olarak görülmektedirler.

C. perfiringens hareketsizdir ve nitratı indirger bu nedenle thioglycholate kültürlerinden nitrat hareketlilik buyyonuna (motilyty nitrate medium), sporlanma buyyonuna ve Cooked Meat Medium (Difco) besiyelerine inokülasyon yapılmıştır. 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Hareketlilik nitrat besiyeri üzerine 0,5-1 ml sülfanilik asit ve eşit α- naftil amin ilave edilerek nitrit varlığı araştırılmıştır. Pembe veya kırmızı rengin meydana gelişi nitrit varlığını belirtmektedir.

Sporlanma buyyonundan 1 ml steril bir tüpe aktarılarak bu tüp 80°C'lik su banyosunda 10 dk ısıtılmış ve soğuyunca 1 ml alınarak sıvı thioglycholate besiyeri tüpüne aktarılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası üreme gözlenmesi spor varlığını göstermiştir. Ayrıca kolonilerden laktoz jelatin ortamına pasaj yapılarak 35-37°C'de 24-44 saat inkübe edilmiştir. Laktoz fermentasyonu ortamın renginin kırmızıdan sarıya dönüşü ve gaz balonlarının meydana gelişiyle anlaşılır. Jelatin *C. perfiringens* tarafından 24-44°C'de sivilaştırılmaktadır. *C. perfiringens*, hareketsiz, nitratı indirger, laktozu fermente eder.

Sonuç olarak SPS agardan siyah koloniler oluşturan, hareketsiz ve nitratı indirgeyen, spor oluşturan şuşlar *C. perfiringens* olarak kabul edilmiştir. Toplam kolonilerden *C. perfiringens* olduğu tesbit edilenlerin yüzdesinden *C. perfiringens* miktarı saptanmıştır. (Thatcher and Clark 1973; Nickerson and Sinskey 1974,)

2.2.9. *Bacillus cereus* sayımı ve tanımlanması

Bunun için homojenize edilmiş örneklerin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} lük dilüsyonlarından 0,1 ml alınarak paraleller halinde Egg yolk polimiksin agar yüzeyine eküvyon ile iyice yayılması sağlanmıştır. Aerobik olarak 30°C 'de 45 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mor-kırmızı bir taban üzerinde presipitat halkası (lesitinaz aktivitesi) ile çevrili koloniler sayılarak 1 g örnekteki miktarı bulunmuştur.

Muhtemel *B. cereus* kolonilerinin plaktaki sayısının karekökü kadar koloni seçilerek yatık agar tüplerine çekilmiştir. 30°C 'de 24 saat inkübe edildikten sonra gram boyamaları yapılmıştır. *B. cereus* mikroskopta kısa gram pozitif uçları dikdörtgen çubuklar şeklinde kısa ve uzun zincirler halinde ve sporları elipsoid şekilde santral veya subterminal olarak görülmektedir.

Yatık agar kültürlerinden Nitrat Buyyonuna ekim yapılmış ve 30°C 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 0,5-1 ml sülfanilik asit çözeltisi ve aynı miktarda α - naftil amin çözeltisi ilave edilerek tüpler çalkalanmıştır, pembe veya kırmızı rengin görülmesi nitratın indirgenmesini göstermektedir.

Yatık agar kültürlerinden Nütrient jelatine transfer iğnesi ile pasaj yapılarak tüpler dik durumda 24 saat 30°C 'de inkübe edilerek değerlendirilmiştir. *B. cereus* jelatini süratle sıvılaştırmaktadır.

Nişasta agar plaklarına çizgi ekim tekniği ile inokülasyon yapılarak 30°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra plakların yüzeyi Lugol çözeltisiyle kaplanarak nişasta hidrolizi gözlenmiştir.

Tamponlu glikoz buyyonuna da birer öze dokusu seçilen kolonilerden inoküle edilerek 30°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Asetil metil karbinol meydana gelip gelmediğinin kontrolü için kültür üzerine 3 ml α - naftol ve 1 ml %40'lık KOH ilave edilmiştir. Pembe rengin meydana gelişi bu test için pozitifdir. *B. cereus* için bu test de pozitifdir.

Bütün bu testler sonucunda *B. cereus* olduğu saptanan kolonilerin yüzdesinden orijinal besin maddesindeki toplam *B. cereus* sayısı hesaplanmıştır. (Kim and Goepfert, 1971; Thatcher and Clark 1973; Nickerson and Sinskey, 1974)

2.2.10. Fekal Streptokokların sayımı ve tanımlanması

10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 'lük dilüsyonlardan ikişer petri kutusunda 1'er ml ekim yapılarak üzerine Crystal violet azide blood agar ilave edilmiştir. 45°C 'de 24 saat inkübe edilmiş ve menekşe renkli koloniler sayılarak 1 gram örnekteki bakteri sayısı hesaplanmıştır.

Daha sonra fekal streptokokların teyidi amacıyla daha önceki işlemde üremiş olan menekşe renkli kolonilerden 5 tanesi seçilerek diğer testler için triptoz yatık agarına pasaj yapılmıştır.

Test edilecek olan kültürler, pH' sı 7.2' ye ayarlanmış triptozlu buyyona (60°C ' de, 30 dk. canlılık), pH'sı %9.6 ya ayarlanmış triptozlu buyyona, %6,5'lük NaCl içeren triptozlu buyyona ve triptoz TTC yatık agarlarına ekilerek 37°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Üreme meydana gelişi bu testler için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar değerlendirilerek fekal strepto-koklar teyid edilmiştir (Thatcher and Clark, 1974).

2.2.11. Maya ve Küf sayımı

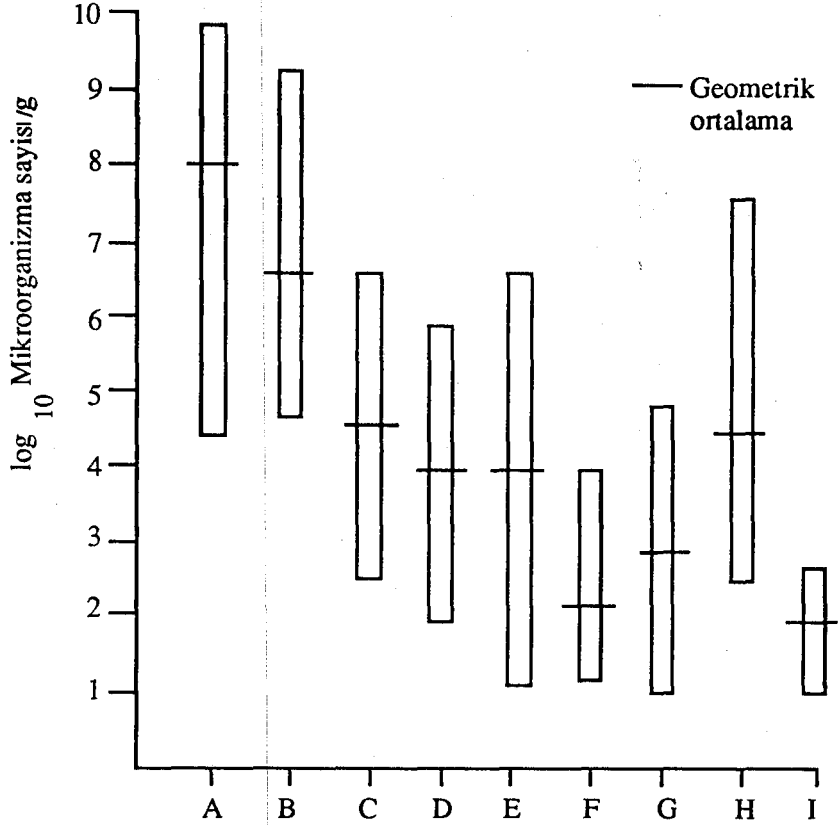
Bunun için 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} lik dilüsyonlardan çift petri kutusuna 1'er ml ekim yapılmıştır. Daha sonra pH'sı tartarik asit ile 4.5'e ayarlanmış Potato Dextrose Agar (PDA) ilave edilerek $20-25^{\circ}\text{C}$ 'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonucu oluşan maya ve küf kolonileri sayılarak bir gram örnekteki toplam sayıları belirlenmiştir (Koburger, 1976).

2.2.12. İstatistiksel Analizler

Kıyama örneklerindeki mikroorganizma sayımlarının aylara ve bölgelere göre farklılığı " Rasgele Bölükler Tasarımı " (iki yönlü varyans analizi) ile yapılmıştır. Aylar ve bölgeler arasındaki farklılık önemli bulunduyorsa, bu farklılığın hangi ay yada bölgeden ileri geldiğini belirlemek içinde Tukey sınaması kullanılmış ve sonuçlar yorumlanmıştır (Çömlekçi, 1988).

3. BULGULAR

Eskişehir'in sosyo-ekonomik yönden farklılık gösteren 10 bölgesinden 9 ay boyunca (Mayıs1991-Ocak1992) ayda bir kez alınan kıyma örneklerinde incelenen mikroorganizmaların bu süre içindeki ortalama, maximum ve minimum sayıları \log_{10} tabanına göre Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1.: 90 adet kıyma örneğindeki ortalama (geometrik ortalama), maximum ve minimum mikroorganizma sayıları.

A: Total Aerobik Bakteri Sayısı	D: <i>E. coli</i>	G: Fekal Streptokok
B: Psikrofil Sayısı	E: <i>S. aureus</i>	H: Maya-Küf
C: Koliform Sayısı	F: <i>B. cereus</i>	I: <i>C. perfiringens</i>

Şekil 3.1'den de görüleceği gibi TABS \log_{10} tabanına göre 4.4-9.9/g arasında değişmiş ortalama \log_{10} 8 olarak, psikrofil bakteri sayısı ise sırasıyla \log_{10} tabanına göre 4.6-9.2/g, ortalama \log_{10} 4.5/g olarak tesbit edilmiştir.

Koliform grubu bakteriler örneklerin %94.4'ünden izole edilmiş ve bunların sayıları \log_{10} tabanına göre 2.5-6.5/g arasında değişmiş ve ortalama

\log_{10} 4.5/g olarak tesbit edilmiştir.

E.coli örneklerin %61.1'inden izole edilmiş ve sayıları \log_{10} tabanına göre 1.9-5.8/g ve ortalama \log_{10} 3.9 /g olarak belirlenmiştir.

S.aureus örneklerin %94.4'ünden izole edilmiş sayıları \log_{10} tabanına göre 1.1-6.5/g arasında ve ortalama \log_{10} 3.9/g olarak tesbit edilmiştir. *S.aureus*'ların %70.1'inin ise koagülaz + olduğu ve sayılarının ortalama \log_{10} 4.3/g olduğu belirlenmiştir.

B. cereus örneklerin % 62.2'sinden izole edilmiş ve sayıları \log_{10} tabanına göre 1.1-3.8/g arasında ve ortalama sayıları \log_{10} tabanına göre 2.1/g olarak tesbit edilmiştir.

C. perfiringens örneklerin ancak %8.8'inden izole edilmiş ve sayıları \log_{10} tabanına göre 1-2.6/g ve ortalama sayıları \log_{10} tabanına göre 1.9/g olarak belirlenmiştir.

Fekal Streptokok'lar örneklerin %51.1'inden izole edilmiş ve sayıları \log_{10} tabanına göre 1-4.8/g arasında ve ortalaması \log_{10} tabanına göre 2.8/g dir.

Salmonella grubu bakteriler örneklerin %6.6'dan izole edilmiş ve bunların 1 tanesi *Salmonella* 5 tanesi de *Shigella* olarak teşhis edilmiştir.

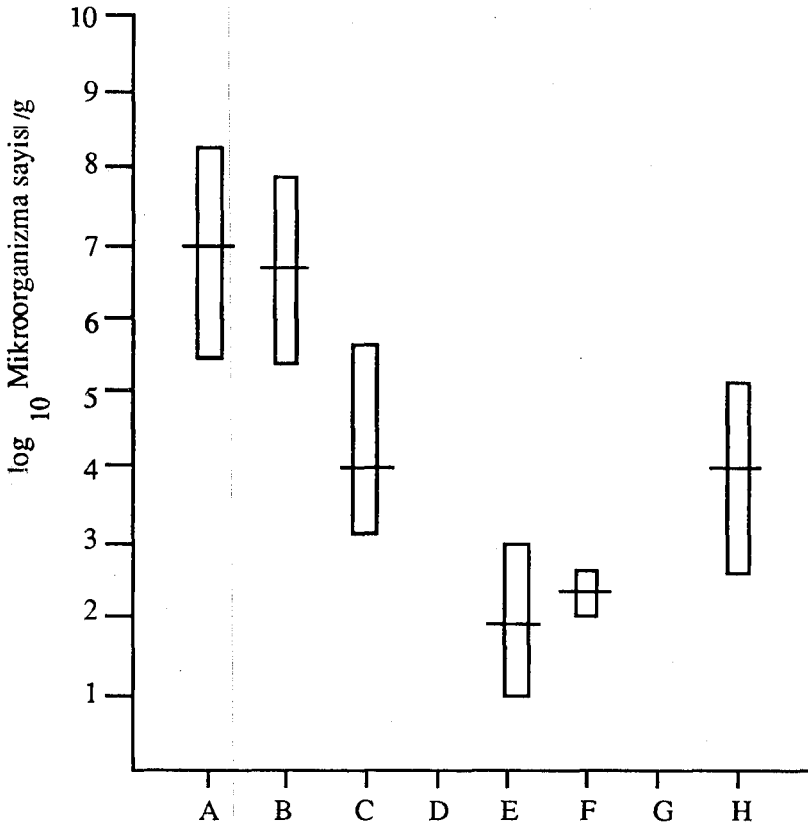
Maya ve Küf sayısı \log_{10} tabanına göre 2.4-7.6/g arasında değişerek ortalaması \log_{10} 2.8/g olarak tesbit edilmiştir.

90 adet çiğ kıyım örneğinde incelenen mikroorganizmaların genel sayıları ve örneklerdeki dağılımı Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Örneklerin % 31.1' inde TABS 10^9 - 10^{10} /g olarak saptanmıştır. Psikrofil sayısı örneklerin %36.6' sında 10^6 - 10^7 /g olarak, koliform sayısı örneklerin %32.2' sinde 10^4 - 10^5 ve %6.6' sında 10^6 - 10^7 /g olarak tesbit edilmiştir. *E. coli* sayısı örneklerin %38.8' inde gramda 10 yada daha az, %8.8' inde 10^5 - 10^6 /g olarak belirlenmiştir. *S. aureus* sayısı örneklerin % 33.3' ünde 10^3 - 10^4 /g ve % 2.2' sinde 10^6 - 10^7 /g olarak saptanmıştır. Koagülaz + *S. aureus* sayısı ise örneklerin % 41'inde 10^3 - 10^4 /g arasında değişmiştir. *B. cereus* *C. perfiringens* ve fekal streptokok sayılarının ise genellikle düşük olduğu görülmüştür. Maya ve küf sayısının ise örneklerin % 31.1' inde 10^5 - 10^6 /g arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. 90 adet çiğ kıyma örneğinde incelenen mikroorganizmaların genel sayıları ve örneklerdeki dağılımı (%).

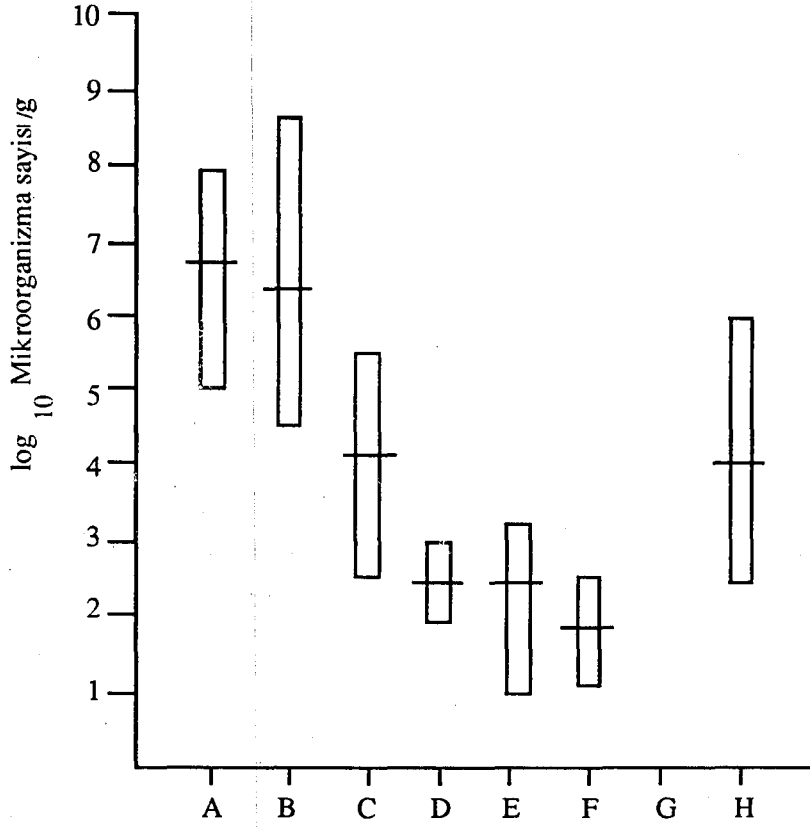
Bakteri grubu	log ₁₀ mikroorganizma sayısı/g									
	<1-1	1.1-2	2.1-3	3.1-4	4.1-5	5.1-6	6.1-7	7.1-8	8.1-9	9.1-10
TABS	-	-	-	-	2	10	15	24	11	28
	-	-	-	-	(2.2)	(11.1)	(16.6)	(26.6)	(12.2)	(31.1)
Psikrofil	-	-	-	-	1	13	33	25	16	2
	-	-	-	-	(1.1)	(14.4)	(36.6)	(27.7)	(17.7)	(2.2)
Koliform	5	-	3	22	29	25	6	-	-	-
	(5.5)	-	(3.3)	(24.4)	(32.2)	(27.7)	(6.6)	-	-	-
<i>E.coli</i>	35	2	10	16	19	8	-	-	-	-
	(38.8)	(2.2)	(11.1)	(17.7)	(21.1)	(8.8)	-	-	-	-
<i>S.aureus</i>	-	5	12	30	25	16	2	-	-	-
	-	(5.5)	(13.3)	(33.3)	(27.7)	(17.7)	(2.2)	-	-	-
Koagülaz+										
<i>S. aureus</i>	-	-	23	36	19	9	-	-	-	-
	-	-	(28.1)	(41)	(21)	(9.9)	-	-	-	-
<i>B.cereus</i>	35	23	23	9	-	-	-	-	-	-
	(38.8)	(25.5)	(25.5)	(10)	-	-	-	-	-	-
Fekal Streptokok	43	8	15	18	6	-	-	-	-	-
	(47.7)	(8.8)	(16.6)	(20)	(6.6)	-	-	-	-	-
<i>C.perfiringens</i>	82	4	4	-	-	-	-	-	-	-
	(91.1)	(4.4)	(4.4)	-	-	-	-	-	-	-
Maya ve küf	-	-	9	22	24	28	6	1	-	-
	-	-	(10)	(24.4)	(26.6)	(31.1)	(6.6)	(1.1)	-	-

Mikroorganizmaların her bir bölgedeki ortalama, maximum ve minimum sayıları Şekil 3. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11'de verilmiştir.



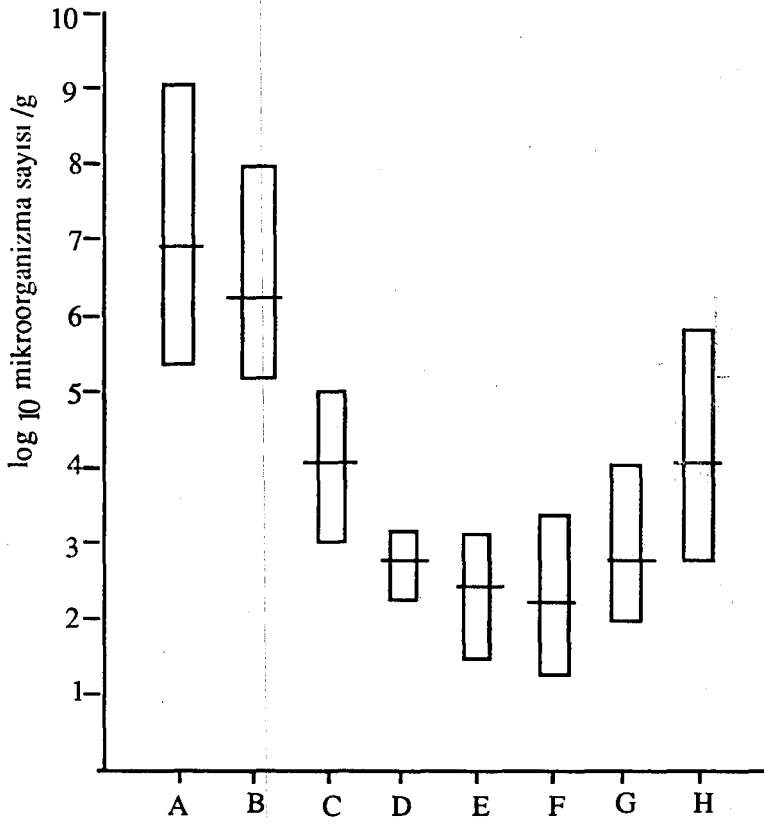
Şekil 3.2.: 1. bölgeden alınan örneklerdeki mikroorganizma sayılarının maksimum, minimum ve ortalama değerleri

1. bölgeden alınan örneklerde TABS log₁₀ tabanına göre 5.4-8.2/g arasında değişmiş ve ortalaması log₁₀ 7/g olarak, psikrofil sayısı log₁₀ tabanına göre 5.4-7.8/g arasında ve ortalama log₁₀ 6.6/g, koliform sayısı log₁₀ tabanına göre 3.1-5.6/g ve ortalama log₁₀ 4/g olarak bulunmuştur. *E.coli* örneklerin sadece 1'inden , fekal streptokok örneklerin 2'sinden izole edilmiştir *S.aureus* log₁₀ tabanına göre 1-3/g arasında ve ortalama log₁₀ 1.9/g olarak belirlenmiştir. *C. perfringens*, *Salmonella* ve *Shigella* izole edilmemiştir. Maya ve küf sayısı log₁₀ tabanına göre 2.5-5.2/g arasında ve ortalama log₁₀ 4/g olarak belirlenmiştir.



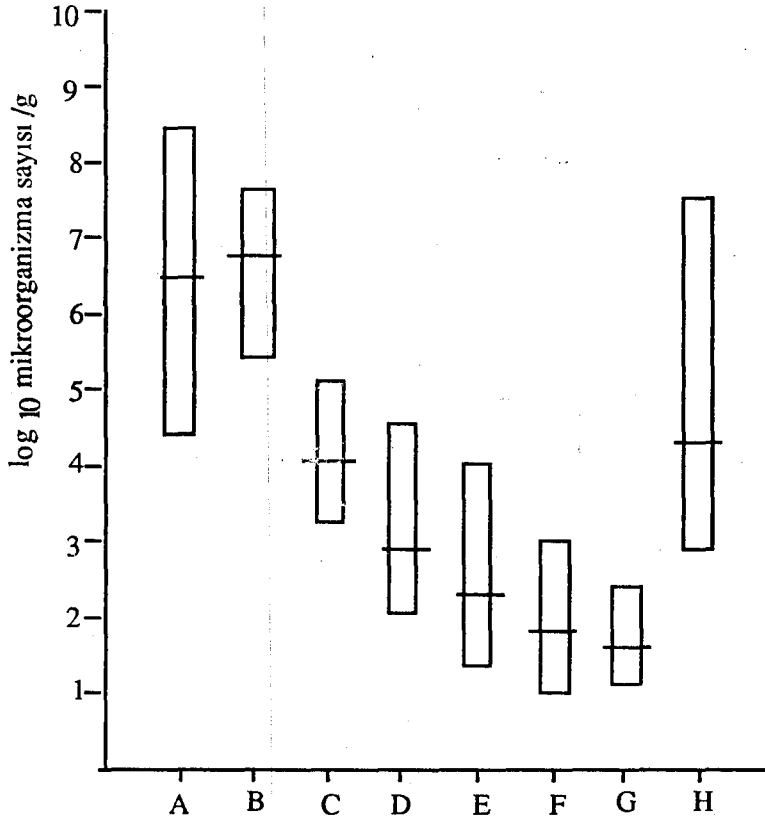
Şekil 3.3.: 2. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

2. bölgeden alınan örneklerde TABS log₁₀ tabanına göre 5.0-7.9/g arasında ortalama log₁₀ 6.7/g , psikrofil bakteri sayısı log₁₀ tabanına göre 4.5-8.6/g arasında ve ortalama log₁₀ 6.3/g, koliform bakteri sayısı log₁₀ tabanına göre 2.5-5.4/g arasında ve ortalama log₁₀ 4.1/g olarak tesbit edilmiştir. *E.coli* ve fekal streptokok örneklerin 2'sinden, *C. perfiringens* l'inden izole edilmiştir. *S.aureus* log₁₀ tabanına göre 1-3.2/g arasında ve ortalama log₁₀ 2.4/g olarak belirlenmiştir. Hiç bir örnekte *Samonella* ve *Shigella*'ya rastlanılmamıştır. Maya ve küf sayısı log₁₀ tabanına göre 2.4-5.9/g arasında ve ortalama log₁₀ 4/g olarak belirlenmiştir.



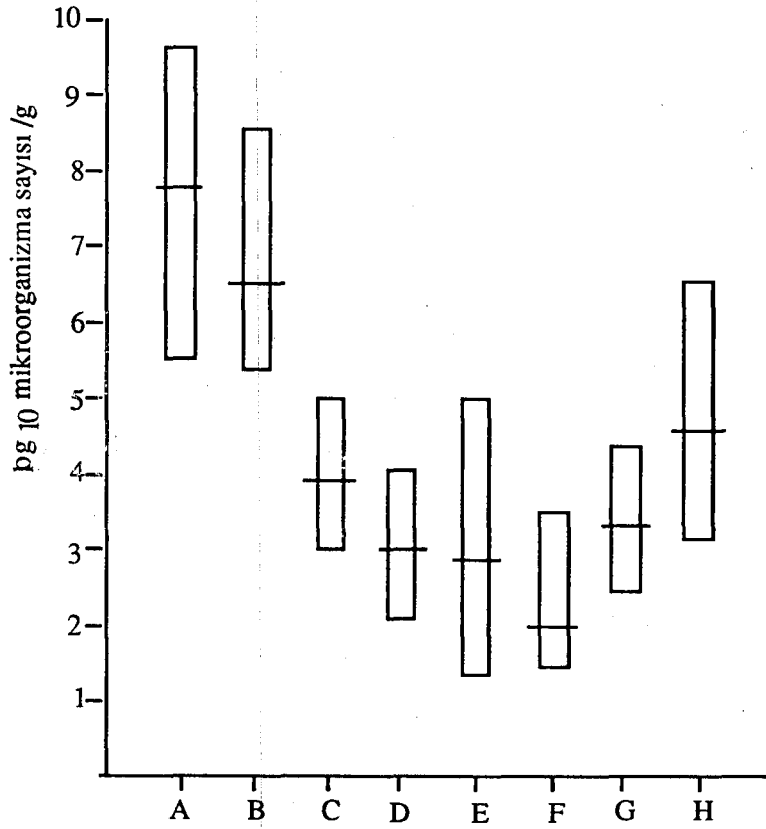
Şekil 3.4: 3. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

3. bölgeden alınan örneklerde TABS log₁₀ tabanına göre 5.4-9.1/g arasında değişmiş ve ortalama log₁₀ 6.9/g, psikrofil sayısı log₁₀ tabanına göre 5.3-7.9/g arasında ve ortalama log₁₀ 6.3/g, koliform sayısı log₁₀ tabanına göre 3.0-5.0/g arasında ve ortalama log₁₀ 4/g olarak bulunmuştur. Örneklerin 4'ünden *E.coli* ve fekal streptokoklar izole edilmiştir. *S.aureus* log₁₀ tabanına göre 1.5-3.2 arasında ve ortalama log₁₀ 2.2 olarak belirlenmiştir. *B. cereus* örneklerin 3'ünden, *C. perfringens* ve *Shigella* ise 1'inden izole edilmiştir. Maya ve küf sayısı log₁₀ tabanına göre 2.7-5.8 arasında ve ortalama log₁₀ 4.1/g olarak belirlenmiştir.



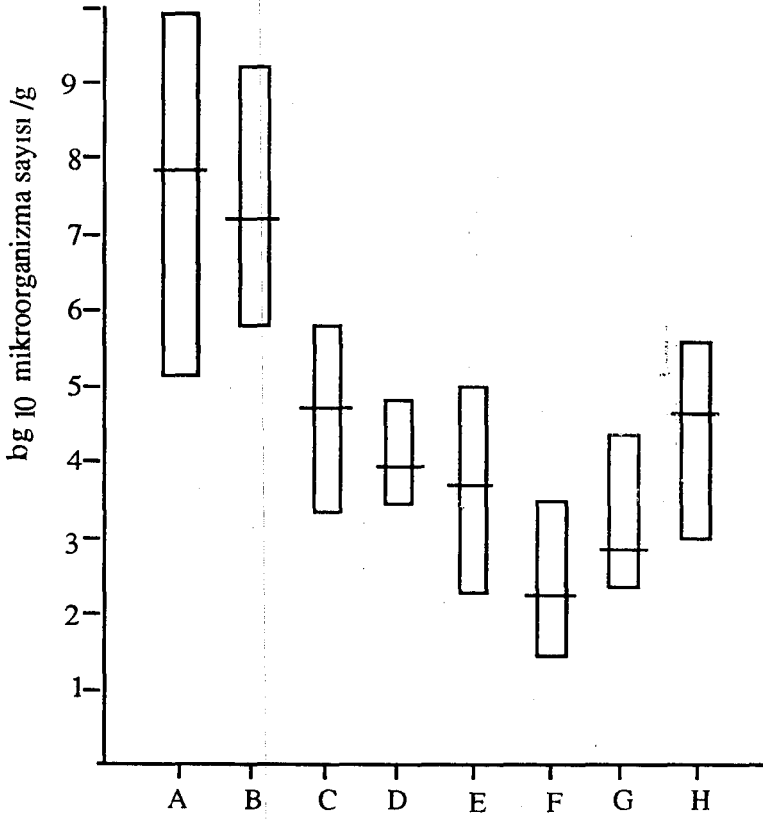
Şekil 3.5: 4. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

4. bölgeden alınan örneklerde TABS'sı \log_{10} tabanına göre 4.4-9.5/g arasında ve ortalama \log_{10} tabanına göre 7.5/g, psikofil sayısı \log_{10} tabanına göre 5.5-7.7/g arasında ve ortalama \log_{10} 6.8/g, koliform sayısı 3.2-5.2/g ve ortalama \log_{10} 4.1/g olarak bulunmuştur. Örneklerin 5'in-den *E. coli*, 4'ünden fekal streptokok, *B. cereus* izole edilmiştir. *S. aureus* sayısı \log_{10} tabanına göre 1.3-4/g arasında ve ortalama \log_{10} 2.3/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin hiçbirinden, *C. perfiringens* ve *Salmonella-Shigella* izole edilememiştir. Maya ve küf sayısı \log_{10} tabanına göre 2.9-7.6/g arasında ve ortalama \log_{10} 4.3/g olarak belirlenmiştir.



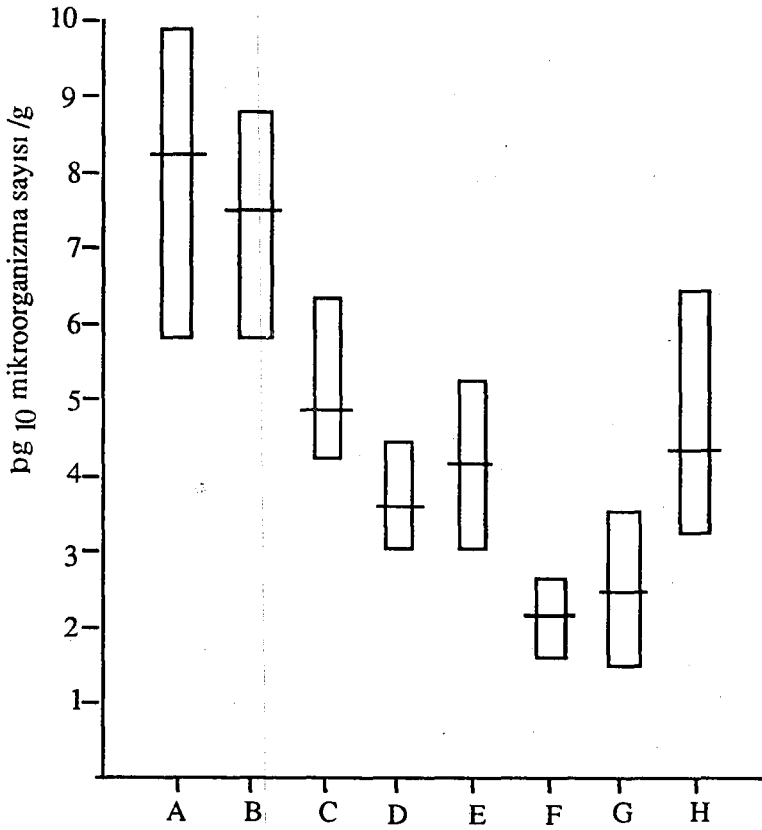
Şekil 3.6: 5. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

5. bölgeden alınan örneklerde TABS \log_{10} tabanına göre 5.6-9.7/g arasında değişmekte ve ortalama \log_{10} 7.8/g, psikrofil sayısı \log_{10} tabanına göre 5.4-8.6/g ve ortalama \log_{10} 6.5, koliform sayısı \log_{10} tabanına göre 3-5.1/g ve ortalama \log_{10} 3.9/g olarak tesbit edilmiştir. *S.aureus* sayısı \log_{10} tabanına göre 1.3-5/g arasında ve ortalama \log_{10} 2.9/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin, 6'sından *E.coli*, 7'sinden *B. cereus*, 4'ünden fekal streptokoklar 2'sinden *C. perfringens* izole edilmiş, hiçbirinden *Salmonella-Shigella* izole edilememiştir. Maya ve küf sayısı \log_{10} tabanına göre 3.1-6.6/g arasında ve ortalama \log_{10} 4.6/g olarak belirlenmiştir.



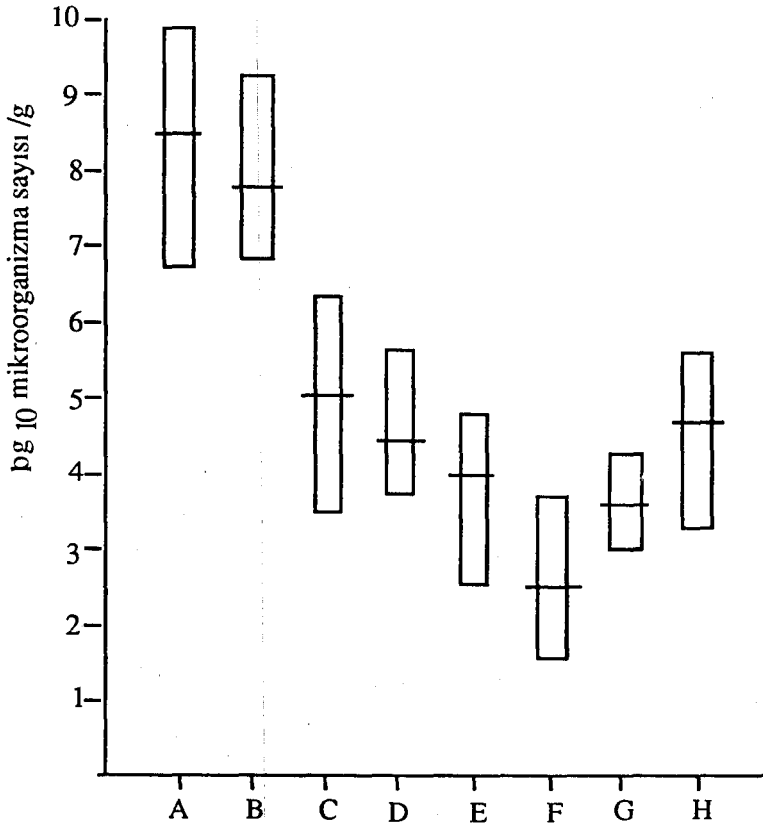
Şekil 3.7: 6. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

6. bölgeden alınan örneklerde TABS log₁₀ tabanına göre 5.1- 9.9/g arasında değişmiş ve ortalama log₁₀ 7.9/g, psikofil sayısı log₁₀ tabanına göre 5.8-9.2 ve ortalama log₁₀ 4.7/g olarak tesbit edilmiştir. *S.aureus* sayısı log₁₀ tabanına göre 2.3-5.0/g arasında ve ortalama log₁₀ 3.7/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin, 6'sında *E.coli* , 6' sında *B. cereus* ve 6'sında da fekal streptokoklara rastlanmıştır. Örneklerin 1'inden *Shigella* ve 1'inden de *C. perfiringens* izole edilmiştir. Maya ve küf sayısı log₁₀ tabanına göre 3-5.6/g arasında ve ortalama log₁₀ 4.7/g olarak belirlenmiştir.



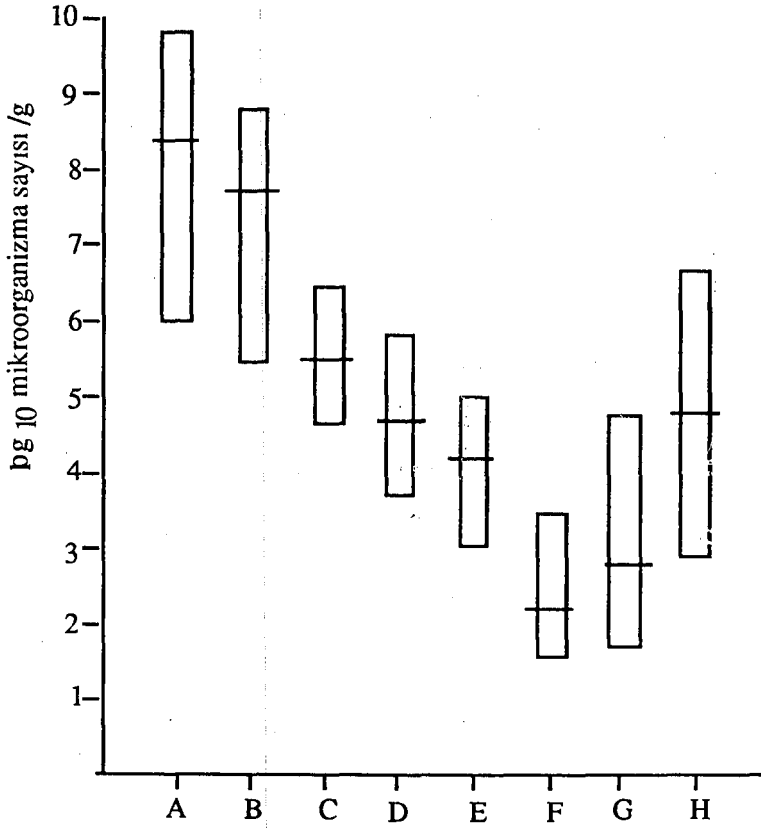
Şekil 3.8: 7. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

7. bölgeden alınan örneklerde TABS \log_{10} tabanına göre 5.7-9.9/g arasında ve ortalama 8.2/g, psikofil sayısı \log_{10} tabanına göre 5.7-8.8/g arasında ve ortalama \log_{10} 7.5/g, koliform sayısı \log_{10} tabanına göre 4.2-6.3/g arasında ve ortalama \log_{10} 4.8/g olarak belirlenmiştir. *S.aureus* sayısı \log_{10} tabanına göre 3-5.3/g arasında ve ortalama \log_{10} 4.1/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin 2'sinde *E. coli*, 5'inde *B.cereus*, 6'sında fekal streptokoklara saptanmıştır. Örneklerin 1'inden *C. perfiringens* izole edilmiş ve hiçbir örnekte *Salmonella-Shigella*'ya rastlanılmamıştır. Maya ve küf sayısı \log_{10} tabanına göre 3.2-6.4/g arasında ve ortalama \log_{10} 4.3/g olarak belirlenmiştir.



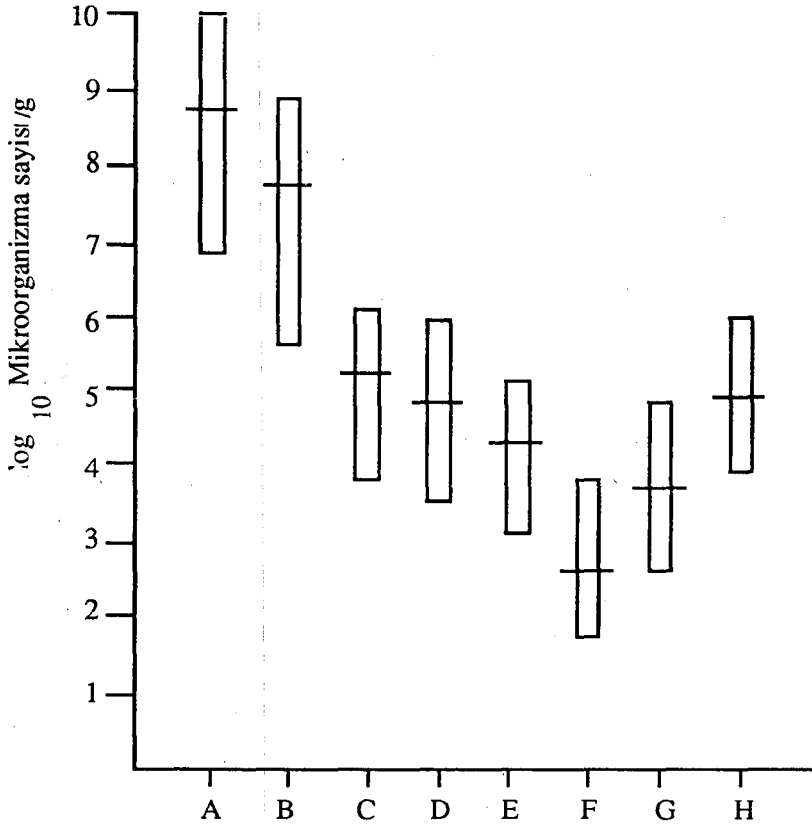
Şekil 3.9: 8. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

8. bölgeden alınan örneklerin TABS \log_{10} tabanına göre 6.7-9.9/g arasında değişmiş ve ortalama \log_{10} 8.5/g olarak ,psikrofil bakteri sayısı \log_{10} tabanına göre 6.9-9.3/g arasında ve ortalama \log_{10} 7.8/g, koliform bakteri sayısı \log_{10} tabanına göre 3.5-6.4/g arasında ve ortalama \log_{10} 5.1/g olarak belirlenmiştir. *S.aureus* sayısı \log_{10} tabanına göre 2.5-4.8 arasında ve ortalama 4/g olarak belirlenmiştir. *E. coli* örneklerin tümünden izole edilmiş ve örneklerin 5'inden *B.cereus*, 7'sinden fekal streptokok, 1'inden de *C.perfiringens* ve *Shigella* izole edilmiştir. Maya ve küf sayısı \log_{10} tabanına göre 3.3-5.6/g arasında değişmiş ve ortalama \log_{10} 4.7/g olarak bulunmuştur.



Şekil 3.10: 9. bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

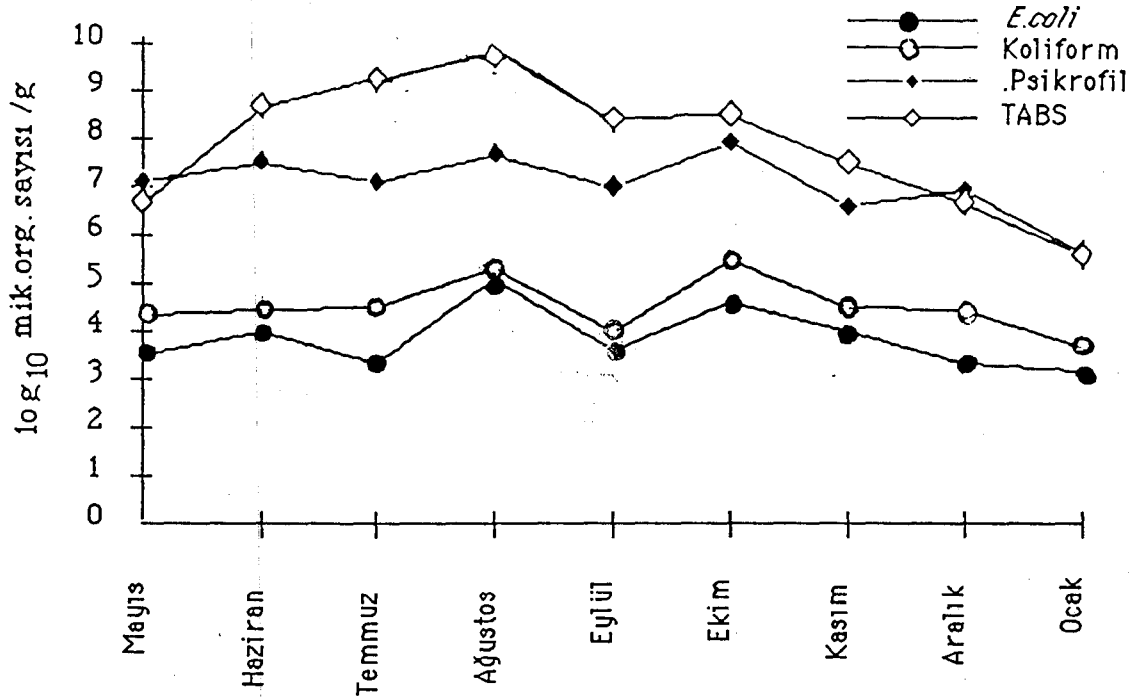
9. bölgeden alınan örneklerdeki TABS log₁₀ tabanına göre 6.0-9.9/g arasında değişmiş ve ortalama log₁₀ 8.4/g, psikrofilik bakteri sayısı log₁₀ tabanına göre 5.5-8.8/g arasında ve ortalama log₁₀ 7.7/g, koliform sayısı log₁₀ tabanına göre 4.6-6.5/g ve ortalama log₁₀ 5.5/g olarak bulunmuştur. *S. aureus* sayısı log₁₀ tabanına göre 3.0-5.0/g arasında ve ortalama log₁₀ 4.2/g olarak tespit edilmiştir. Örneklerin 7'sinden *E. coli* ve *B. cereus*, 5'inden fekal streptokok, 1'inden *C. perfringens* ve 2'sinden *Shigella* izole edilmiştir. Maya ve küf sayısı log₁₀ tabanına göre 2.9-6.7/g arasında değişmiş ve ortalaması log₁₀ 4.8/g olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.11: 10 bölgeden alınan tüm kıyma örneklerinde mikroorganizma sayılarının maximum, minimum ve ortalama değerleri.

10. Bölgeden alınan örneklerde TABS \log_{10} tabanına göre 6.8-9.9/g arasında ve ortalama 8.7/g, psikrofil bakteri sayısı \log_{10} tabanına göre 5.6-8.9 arasında ve ortalama \log_{10} 7.7/g, koliform bakteri sayısı \log_{10} tabanına göre 3.8-6.1/g arasında ve ortalama \log_{10} 5.2/g olarak saptanmıştır. *S. aureus* sayısı \log_{10} tabanına göre 3.1-5.1/g arasında değişmiş ve ortalama \log_{10} 4.3/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin 8'inden *E.coli*, 9'undan *B.cereus*, 6'sından fekal streptokok, 1'inden *Salmonella* izole edilmiş, hiçbir örnekte *C.perfiringens*'e rastlanılmamıştır. Maya ve küf sayısı \log_{10} tabanına göre 3.9-6.0/g arasında değişmiş ve ortalaması \log_{10} 4.9/g olarak belirlenmiştir.

Mikroorganizmaların ortalama sayıları aylara göre değişimi ise Şekil 3.12 ve Şekil 3.13'de görülmektedir.



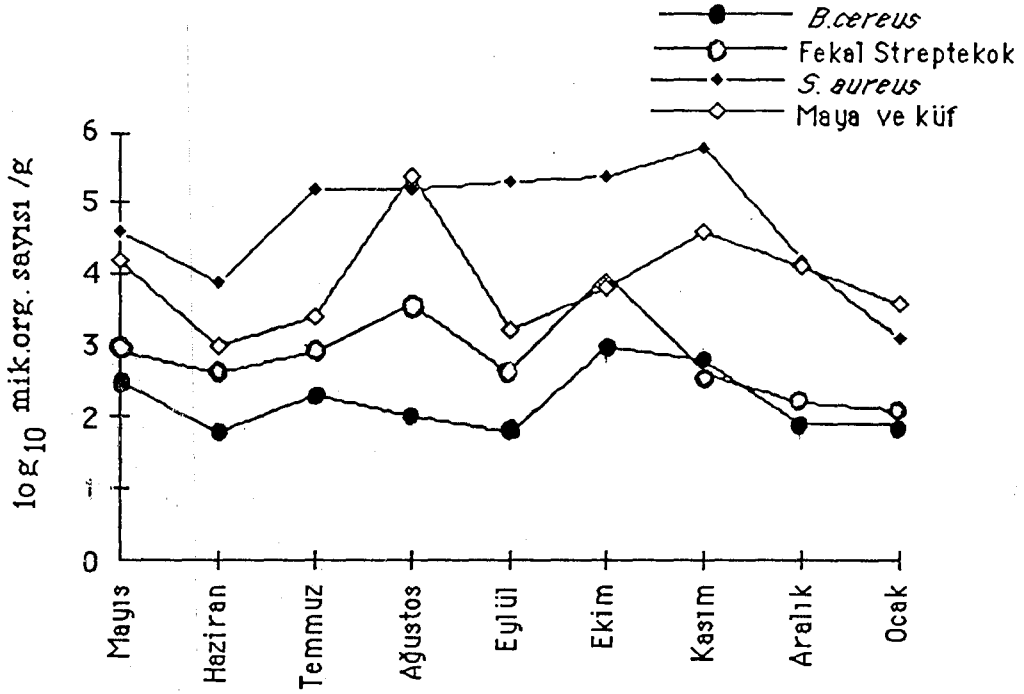
Şekil 3.12. Mayıs-Ocak aylarında alınan tüm örneklerdeki TABS, psikrofil, koliform ve E.coli'nin ortalama sayılarının aylara göre değişimi.

Şekil 3.12'dende görüldüğü gibi TABS yaz aylarında \log_{10} tabanına göre 9.9/g gibi çok yüksek sayılara ulaşmış kış aylarında ise düşüş göstermiştir.

Psikrofillerin sayısında ise Mayıs aylarından Kasım aylarına kadar geçen sürede belirli bir değişim görülmediği ancak kış aylarında sayılarının azaldığı gözlenmiştir.

Koliformların sayısı ise yaz aylarında ve sonbaharda oldukça yüksek bulunmuş kış aylarında ise düşüş göstermiştir.

E.coli sayısında aylara bağımlı olarak çok fazla bir değişim göstermediği ancak yaz aylarında diğer aylara oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir.



Şekil. 3. 13. Mayıs - Ocak ayları arasında alınan tüm örneklerdeki *B. cereus*, fekal streptokok, *S. aureus* ve maya-küf sayılarının aylara göre değişimi.

B. cereus sayılarında Eylül ve Ekim aylarında bir yükselme olmasına karşın bu farkın diğer aylarla karşılaştırıldığında çok önemli olmadığı gözlenmiştir.

Fekal Streptokok ise diğer aylara göre Ekim ayında yükselme göstermiş ancak buda *B. cereus* da olduğu gibi çok önemli bir fark olmamaktadır.

Maya ve küflerin sayısı ise Ağustos ayında en yüksek değerini bulmuş kış aylarında sayıları oldukça düşüş göstermiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1 İncelemeye Alınan Örneklerdeki Mikroorganizma Sayıları ve Bölgelere ve Aylara Göre Dağılımı.

4.1.1.Total aerobik bakteri sayısı:

Çizelge 3.1' den de görüleceği gibi bütün örneklerde TABS yüksek bulunmuştur. Örneklerin %31.1' inde TABS gramda 10^9 ve daha büyük, %2.2' sinde ise 10^4 - 10^5 /g arasında saptanmıştır. En büyük TABS 10^{10} /g ile 10. bölgede, 4.-9. bölgelerde 10^9 /g'dan fazla, 1-3. bölgelerde ise 10^5 - 10^9 /g olarak tesbit edilmiştir. Ülkemizde bu konuda yapılan benzer çalışmalarda da TABS sayısı yüksek bulunmuştur. Tekinşen vd (1980) Ankara' da kıyım örneklerinin %37' sinde 10^8 /g' den fazla TABS saptamışlardır. Yine Ankara' da çeşitli semtlerden alınan örneklerde TABS 4.5×10^6 - 5.0×10^8 /g arasında değiştiği bildirilmiştir (Akıllı, 1983). Erzurum'un çeşitli semtlerinden alınan kıyım örneklerinde ise TABS 2.8×10^5 - 2.7×10^8 /g olarak tesbit edilmiştir (Yetim, 1985). Akın ve Kaya (1988), Ankara'da yaptığı çalışmada TABS'ni 7×10^5 - 4.0×10^8 /g, Başegmez (1988) Bursa' da bu değerleri 2.5×10^4 - 2.0×10^8 /g olarak bildirmiştir.

TABS yönünden diğer ülke standartları ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde sapmalar kaydedilmiştir. Gramda 10^6 TABS bulunmasını öneren New York standartlarından kıyım örneklerimizin %87.7'si, Oregon standartlarından (5×10^6 /g) ise %73.3'ü, örneklerin %68.8'i ise Kanada ve Maryland (10^7 /g) standartlarından yüksek olduğu saptanmıştır.

Genel olarak kıymalarda gramdaki TABS 'nin 10^7 'nin üzerinde olmaması önerilmiştir (Duitschaever et al, 1975; Pivnic et al, 1976). Bu çalışmada ise örneklerin %69.9'unda TABS 10^7 /g'nin üzerindedir. Sonuçlar her ne kadar ülkemizde yapılan çalışmalara benzerlik gösteriyor ise de, gelişmiş ülkelerde yapılan benzer çalışmaların sonuçlarından oldukça fazla olmuştur. (Surkiewicz et al, 1975; Chambers et al, 1976; Pivnic et al, 1976; Foster et al, 1977).

TAB sayılarında bölgelere göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık

($P < 0.01$) bulunmuştur. Yapılan Tukey çoklu karşılaştırma testine göre 1.,2.,3. bölgeler ile 6.,7.,8.,9. ve 10. bölgeler arasında farklılık gözlenmiş ve en yüksek sayılar şehrin sosyo-ekonomik durumun kötü olduğu 6, 7, 8, 9, ve 10. bölgelerinden tesbit edilmiştir.

Kıyma örneklerinin TAB sayıları aylara göre de önemli ($P < 0.01$) bir farklılık göstermiştir. En yüksek sayı yaz aylarında tesbit edilmiştir. Yapılan Tukey testine göre Mayıs ayı ile Kasım ve Aralık ayları, Haziran, Temmuz ve Ağustos ayları ile Kasım, Aralık ve Ocak ayları arasında, Eylül ve Ekim ayları ile Ocak ayı arasında önemli farklılıklar olduğu tesbit edilmiştir ve yaz aylarında TABS kış aylarına göre oldukça yükselmiştir. Bunun yaz aylarındaki sıcaklık artışından kaynaklandığı söylenebilir.

TABS'nın yüksek oluşu her zaman bozulmayla korelasyon halinde olmamakla beraber sanitasyon yetersizliğinin bir göstergesidir (Thatcher and Clark, 1973; Shoup and Oblinger, 1986). Ayrıca yüksek TABS'nın kısa raf ömrüne sebep olduğu bildirilmiştir (Gökten, 1990). Bu açıdan düşünüldüğünde örneklerin yarısından fazlasında uygun şartlarda kısa sürede bozunma meydana gelebileceği düşünülmektedir. Özellikle sosyo-ekonomik seviyesi düşük olan bölgelerde TABS'nın çok yüksek olması, bu bölgelerdeki yetersiz sanitasyonu ve etlerin uygun olmayan depolanma koşullarında saklandığını işaret etmesi açısından önemlidir. Diğer bölgelerde hijyenik kurallara daha fazla dikkat edildiği ortaya konmuştur. Bu açıdan bakıldığında TABS'nın çiğ kıymalar için bir sanitasyon ölçüsü olarak kullanabileceği düşünülebilir. Yaz aylarında TAB sayısındaki yükseliş de uygun soğutma tekniklerine tam uyulmadığını işaret edebilir.

4.1.2. Psikrofilik bakteri sayısı

Örneklerdeki psikrofil bakteri 10^4 - 10^9 /g arasında değişmiş ve ortalama 10^6 /g olarak saptanmıştır. Örneklerin %1.1'inde 10^4 - 10^5 /g, %36.6'sında 10^6 - 10^7 /g, %27.7'sinde 10^7 - 10^8 /g, %2.2'sinde 10^9 /g' dan daha fazla olmuştur. En yüksek psikrofilik sayı 8. bölgeden (10^9 /g) elde edilmiştir. Diğer bölgelerde ise 10^7 - 10^8 /g arasında değişmiştir. Tekinşen vd. (1980) Ankara'dan alınan kıyma örneklerinin %27.7'sinde psikrofil bakteri sayısının 10^5 - 10^6 /g, %9'unda 10^6 - 10^7 /g, %37'sinde ise 10^7 - 10^8 /g, %27'sinde

ise $10^8/g$ ' den daha fazla bulmuşlardır. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında sonuçlar benzerlik göstermekte ancak örneklerdeki dağılımı düşünüldüğünde, örneklerin çoğunda $10^6-10^7/g$ olarak tesbit edilmiştir. Yetim'in (1985) yaptığı çalışmada bu sayı ortalama $10^8/g$ olarak bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada ise psikrofil bakteri sayısı $3.4 \times 10^4-1.1 \times 10^5/g$ olarak bulunmuştur (Goepfert and Kim, 1975) . Bu sonuçla karşılaştırıldığında ise psikrofilik bakteri sayısının oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Varyans analizine göre psikrofilik bakteri sayısı bakımından bölgeler arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmiştir ($P < 0.01$). 8., 9. ve 10. bölgelerde diğer bölgelere oranla daha fazla sayıda psikrofil bakteri tesbit edilmiştir. 2., 3.bölgeler ile 8., 9. ve 10. bölgeler arasında Tukey testine göre önemli ($P < 0.01$) farklılık görülmüştür.

Yapılan varyans analizine göre örneklerdeki psikrofil bakteri sayıları arasında aylara göre de önemli farklılık ($P < 0.01$) bulunmuştur. Uygulanan Tukey testine göre Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül ayları arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($P > 0.05$). Ancak bu aylar ile Ocak ayı arasında, Ekim ile Kasım ve Ocak ayları arasında önemli bir farklılık ($P < 0.01$) gözlenmiştir.

Taze et ve et ürünlerinde putrefaktif etken olarak psikrofilik floranın mezofillere göre daha önemli olduğu (Chambers et al, 1976) bilinmektedir.

Psikrofilik bakterilerin besinlerde fiziksel bozulmalar ile tad ve koku bozulmalarının etmeni olduğu düşünülürse saklama sırasında ve tüketime kadar geçen süre içinde kıymaların bozulması için potansiyel bir tehlikenin varlığı açıkça görülmektedir. Bunun yanında psikrofilik bakterilerin çoğalmaları zaman/ısı ile yakından ilgili olduğundan , kıymaların elde edilmesinde özellikle sosyo-ekonomik seviyesi düşük bölgelerde hijyenik kurallara uyulmadığı bir kez daha ortaya konmuş olmaktadır.

4.1.3. Koliform grubu bakterilerin sayısı

Koliform grubu bakteriler örneklerin %4.5'inden izole edilememiştir. Koliform izole edilen örneklerdeki bakteri sayısı $10^2-10^6/g$ arasında değişmiştir.

İncelenen örneklerin %3.3'ünde $10^2-10^3/g$, %32.2'sinde $10^4-10^5/g$,

%6.6'sında gramda 10^6 yada daha fazla olarak belirlenmiştir. En yüksek koliform sayısı 7., 8., 9. ve 10. bölgelerde saptanmıştır. Yüksek sayıda koliform bakteri sayısının sebebi bu bölgelerin sosyo-ekonomik yönden az gelişmiş olması ve hijyenik kurallara uyulmaması olabilir.

Tekinşen vd (1980) koliform bakteri sayısını örneklerin %50'sinde 10^8 /g'den fazla bulmuşlardır. Akıllı(1983) ise örneklerin %51'inde 10^6 - 10^7 /g arasında değiştiğini saptamıştır. Bu çalışmada saptanan koliform sayısı Tekinşen vd.(1980) ve Akıllı'nın (1985) belirlediği sayıların altında bulunmuştur. Yetim'in (1985) Erzurum'da yaptığı çalışmada örneklerin %45.8'inde gramda 10^5 'den fazla koliform saptanmıştır. Ankara'da yapılan bir başka çalışmada ise koliform bakteri sayısı 10^3 - 6×10^5 /g arasında saptanmıştır (Akın ve Kaya, 1988). Başeğmez (1988) koliform bakteri sayısını 0- 10^7 /g arasında bildirmiştir.

Goepfert (1976) koliform bakteri sayısını örneklerin %5'inde 10^2 /g, %4'ünde 10^4 /g'dan fazla, Shoup and Oblinger(1976) 10^5 /g 'den fazla, Chambers et al (1976) ortalama 10^3 /g, Foster et al (1977) 4.9×10^3 /g, Karim (1977) 10^7 /g, Sumner (1978) 10^2 - 10^6 /g arasında bildirmişlerdir.

Yapılan varyans analizine göre örneklerdeki koliform bakteri sayısı bölgelere göre istatistiki olarak önemli ($P < 0.01$) bir farklılık göstermiştir. Tukey testine göre 10. bölgede diğer bölgelere oranla daha fazla sayıda koliform bakteriye rastlanmıştır, diğer bölgeler arasında önemli bir farklılık görülmemiştir.

Varyans analizine göre aylara göre de istatistiki olarak önemli ($P < 0.01$) bir farklılık belirlenmiş, Ağustos ve Ekim ayı ile Ocak ayı arasında arasında önemli bir farklılık görülmüştür. Kış aylarında özellikle de Ocak ayında hava sıcaklığının oldukça düşüş göstermesi koliform sayısındaki düşüşün nedeni olabilir.

Belirlenen standartlara göre örneklerin %76.6'sı Ohio (3×10^3 /g), %91.1'i Georgia ve Kanada(10^3 /g), %94'ü Florida'da (10^2 /g) belirlenen standartların çok üstünde koliform bakteri içermiştir(Chambers.et al, 1976; Shoup and Oblinger, 1976; Westhoff and Feldstein, 1976).

Koliformlar besin maddelerinin bakteriyolojik analizlerinde hijyen indikatörü olarak kullanılırlar ve besin maddelerinde bulunmaları istenmez (Thatcher and Clark, 1973; Gökten, 1990). Bu çalışmada koliform sayıları

genellikle yüksek bulunmuştur ve bu da Eskişehirde tüketime sunulan kıymaların hijyenik kalitesinin düşük olduğunu , et satış yerlerinde hijyen kurallarına dikkat edilmediğini göstermektedir.

4.1.4. *E. coli* sayısı

Koliform izole edilen örneklerin %61.1'inden *E. coli* izole edilmiştir ve sayıları $10-10^5/g$ arasında değişmiştir. *E.coli* sayısı örneklerin %38.8'inde $10/g$, %8.8'inde $10^5-10^6/g$ olarak bulunmuş, diğer örneklerdeki sayı $10-10^5/g$ arasında değişmiştir.

E. coli sayısında bölgeler arasında istatistiki olarak önemli farklılık ($P<0.01$) gözlenmiştir. Yapılan Tukey testine göre 1. bölge ile 8., 9. ve 10. bölgeler arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır.

Yapılan varyans analizi sonucunda aylar arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$).

Yetim'in (1985) yaptığı çalışmada *E. coli* sayısı örneklerin %97.1'inde $10^2/g$ 'den, %66.6'sında $10^4/g$ 'den fazla olarak saptamıştır. Akın ve Kaya (1988) *E. coli* sayısını $0.3-240/g$ olarak, Başğmez ise (1988) örneklerin %46.5'inde *E. coli* bulunduğunu bildirmiştir.

E. coli sayısını, Surkiewicz et al (1975) $100/g$ ve daha fazla, Goepfert and Kim (1975) $155/g$, Goepfert (1976) örneklerin %36' sında $50/g$ 'den fazla, Shoup and Oblinger(1976) $10^4/g$ 'den daha fazla , Westhoff and Feldstein (1976) $5/g$, Duiutschaever et al (1977) örneklerin %39.8'inden *E. coli* izole etmiş ve bunların da %88.4'ünden de $500/g$ 'den fazla, Foster et al (1977) $1.9 \times 10^3/g$ olarak saptamışlardır.

E. coli yönünden örneklerin %58.8'inin Kanada ($100/g$), %61.1'inin Washington, Oregon, Florida ($50/g$) ve %61.1'inin New York ($10/g$) standartlarını aştığı belirlenmiştir. Örneklerin %38.8'inden ve bu örnekler belirtilen standartlara uygunluk göstermiştir (Carl, 1975; Goepfert, 1976; Pivnic et al, 1976; Shoup and Oblinger, 1976; Westhoff and Feldstein, 1976).

Fekal kirlenmenin indikatörü olarak kullanılan *E. coli* araştırma bölgelerinin çoğunda özellikle de sosyo-ekonomik olarak düşük seviyede olan bölgelerde yüksek sayıda tesbit edilmiştir. çeşitli araştırmacılar halkın tüketimine sunulan kıymalarda *E. coli* sayısının 10^2 'den fazla olmaması

gerektiğini bildirmektedir (Carl, 1975; Goepfert, 1976; Wyatt and Guy, 1980).

E. coli sayısının yüksek olması hijyenik koşullara uyulmadığını ortaya koymaktadır.

4.1.5. *Staphylococcus aureus* sayısı

Örneklerin %94,4'ünden *S. aureus* izole edilmiştir. Sayıları %5'inde $10 \cdot 10^2/g$, %33,3'ünde $10^3 \cdot 10^4/g$, %2,2'sinde $10^6 \cdot 10^7/g$ olarak tesbit edilmiştir. Örneklerin %70,1'ünden Koagülaz ve hemoliz pozitif *S. aureus* izole edilmiştir. Örneklerin %41'inde $10^3 \cdot 10^4/g$, %21'inde $10^4 \cdot 10^5/g$ ve %9,9'unda $10^5/g$ 'den fazla koagülaz pozitif *S. aureus* bulunmaktadır.

Tekinşen vd. (1980) Stafilokok sayısını örneklerin %53'ünde $10^5 \cdot 10^6/g$, Yetim (1985) %37,4'ünde $10^3/g$ 'den fazla ve %21'inde $10^5/g$ 'den fazla koagülaz pozitif stafilokok, Akın ve Kaya (1988). $10^4 \cdot 7 \times 10^6/g$ *S. aureus* tesbit edilmiştir. Bu çalışma sonuçları ülkemizde yapılan çalışmalara benzerlik göstermektedir.

Surkiewicz et al. (1975), 100/g den az, Goepfert and Kim (1975) 3200/g, Shoup and Oblinger (1976) $10^4/g$, Pivnic et al (1976) örneklerin %90,7'sinde 100/g'den az ve %0,1'inde $10^6/g$ den fazla *S. aureus* saptamışlardır. Duitschaever et al. (1977) örneklerin %46,3'ünden *S. aureus* izole etmiş bunların da %88'inde $10^3/g$ den fazla, Foster et al (1977) örneklerin %61,3'ünde *S. aureus* bulunduğunu ve sayılarının ortalama $5,7 \times 10^1/g$ olduğunu, Sumner (1978) $10^2 \cdot 10^6/g$ Stafilokok bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda yabancı ülkelerdeki çalışmalardan elde edilen sayıların üstünde *S. aureus* sayısı tesbit edilmiştir.

Örneklerin %5,5'i Idaho, North Dakota (0/g) ve %7,7'si Oregon (10/g), %18,8'inin Kanada ve Wirginia (100/g) standartlarına uygunluk gösterdiği (Pivnic et al., 1976; Westhoff and Feldstein, 1976; Wyatt and Guy, 1980) diğer örneklerin ise sınırların çok üstünde olduğu belirlenmiştir.

S. aureus sayısında bölgeler ve aylar arasında istatistiki olarak önemli ($P<0,01$) farklılık bulunmuştur. Yapılan Tukey Testine göre 1, 2, 3, 4, 5 bölgeler ile 6, 7, 8, 9, 10 bölgeler arasında, 5, 6, 7, 8 bölgeler ile 9 ve 10. bölgeler arasında önemli bir farklılık görülmüştür ($P<0.01$).

Tukey testine göre Mayıs, Haziran, Temmuz ayları ile Ağustos ayı arasındaki farklılık önemli olarak bulunmuştur ($P<0.01$). Bunun yine sıcaklığın yaz aylarında yükselişinden kaynaklandığı sanılmaktadır.

Koagülaz + *S. aureus* açısından da aylar arasında $P<0.05$ ihtimal sınırları içinde önemli farklılık meydana gelmiştir. Yapılan Tukey testinde Temmuz ve Ağustos ayları arasında önemli farklılık bulunmuş, diğer aylarla arasında önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Bölgeler arasındaki farklılık ise, 1, 2, 3. bölgeler ile 5, 7, 9 ve 10. bölgeler arasında ($P<0.05$) önemli bulunmuştur.

Koagülaz + *S. aureus* besin zehirlenmesine neden olan enterotoksin üretmektedir (Jay, 1970). Hemolitik olan bir çok suşunda enterotoksin oluşturma yetenekleri vardır (Tatini et al. 1976). Bizim çalışmamızda koagülaz ve hemoliz + *S. aureus* sayısı oldukça yüksektir. Örneklerin %70.1'inden izole edilmişlerdir. Bu durum halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlikenin varlığına işaret etmektedir. Uygun şartlarda enterotoksin oluşturulabileceğini düşündürmektedir. *S. aureus* insan burun mukozasında ve epitelinde, cerehatli yaralarda bulunmaktadır. *S. aureus*'un yüksek sayılarda bulunuşu etlerin, kıyma haline gelinceye kadar ki aşamalarında işçilerin deri, ağız ve burundan kontaminasyonuna işaret etmektedir.

4.1.6. *Salmonella-Shigella*

Örneklerin %6.6'sından *Salmonella-Shigella* grubu bakteriler izole edilmiştir. 3., 6., 8. ve 9. bölgelerden *Shigella*, 10.bölgeden *Salmonella* izole edilmiştir

Surkiewicz et al. (1975) örneklerinin %0.4'ünden, Shoup and Oblinger (1976) Örneklerinin %2.5'inden *Salmonella* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Salmonella ve *Shigella* cinsi bakterilerin gıda maddelerinde bulunmasına kesinlikle izin verilmemesi gerektiği bir çok literatürde belirtilmiştir (Jay, 1970; Thatcher and Clark, 1973; Foster et al., 1977; Wyatt and Guy, 1978; Mates, 1983). Kıyma örneklerinden izole edilen *Salmonella* ve *Shigella*'nın, dikkatsiz ve hijyenik kurallara uyulmadan çalışma sonucunda, kesim sırasında kesimhane alet ve ekipmanları, bağırsak içeriği ve çalışanların ellerinden bulaşmış olabileceği düşünülmektedir.

4.1.7. *C. perfiringens* sayısı

C. perfirinens örneklerin ancak %8,8'inde bulunmuştur ve sayıları $10-10^2/g$ arasında değişmiştir. Tekinşen vd. (1980) örneklerin %35'inde *C. perfiringens* bulmuş ve sayılarını $0-10^3/g$ arasında, Foster et al (1977) örneklerin %56'sında bu bakteriye rastlamış ve sayısını $1-2.7 \times 10^3/g$ olarak, Wyatt and Guy (1980) örneklerin %20'sinde *C. perfiringens* bulmuş ve sayısını $10-100/g$ olarak bildirmiştir. Carl (1975) örneklerin %20'sinden bu bakteriyi izole etmiştir. Shoup and Oblinger (1976) de genellikle az sayıda ($>50-400/g$) *C. perfiringens* tesbit etmişlerdir. *C. perfiringens* 2., 3., 5., 6., 7. ve 9. bölgelerden izole edilmiştir.

C. perfiringens besin zehirlenmesine neden olduğundan gıdalarda bulunması istenmez, meydana getirdiği besin zehirlenmelerinde $10^5-10^6/g$ basil bulunduğu belirtilmiştir (Thatcher and Clark, 1973). Kıyma örneklerinin büyük bir kısmında bulunmamış olması sevindirici olmakla birlikte potansiyel bir tehlikenin varlığında unutulmamalıdır.

4.1.8. *B. cereus* sayısı

B. cereus örneklerin %62,2'sinden izole edilebilmiş ve gramdaki sayıları $10-10^3$ arasında değişmiştir. Goepfert and Kim (1975). *B. cereus* sayısını 100/g olarak belirlemiştir. Varyans analizi sonucunda bölgeler ve aylar arasındaki farklılık istatistiki olarak ($P>0,05$) önemsiz bulunmuştur.

B. cereus'un besin maddelerinin gramında 10^6-10^7 bakteri bulunduğunda besin zehirlenmesi meydana getirebileceği bildirilmiştir. (Kim and Goepfert, 1971; Lewis and Angelotti, 1979). Örneklerdeki sayıları çok yüksek bulunmadığı için halk sağlığı açısından büyük bir tehlike oluşturmamaktadır. Ancak Alkış'ın (1982) katı besin maddeleri için bildirdiği mikrobiyolojik standartlara göre ($10^2/g$) örneklerin %35,5'i bu standardı aşmıştır. $10^6/g$ basil bulunduğunda besin zehirlenmelerine neden olabileceği (Jay, 1970, Lewis and Angelotti, 1979) düşünülürse bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu sayının altında olduğundan potansiyel bir tehlike varlığı düşünülmemektedir.

4.1.9. Fekal Streptekok sayısı

Fekal streptekoklara örneklerin %52,2'sinde rastlanılmış ve sayıları $10-10^4/g$ arasında belirlenmiştir. Sayıları örneklerin %47,7'sinde $<1-10/g$, %16,6 sında $10^2-10^3/g$ ve %20'sinde $10^3-10^4/g$ arasında değişmiştir.

Foster et al. (1977) fekal streptekok sayısını $<1-2.1 \times 10^4/g$ arasında ve ortalamasını $1.8 \times 10^3/g$ olarak bildirmişlerdir. Tekinşen vd.'nin (1980) yaptığı çalışmada örneklerin %20'sinde fekal streptekok bulunamamış, ortalama sayıları ise $1.5 \times 10^5/g$ olarak bildirilmiştir. Goepfert and Kim (1976) bu sayıyı 4400/g olarak, bildirmişlerdir. Fekal Streptekok sayısı diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında örneklerdeki ortalama sayı ve % dağılımı açısından Tekinşen vd.'nin (1980) bildirdiği fekal Streptekok sayısından daha az, Foster et al (1977) ve Goepfert and Kim (1975) ile

karşılaştırıldığında ise daha fazla sayıda bulunmuştur.

Bu sonuçlar standartlarla ve benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında Mates (1983) örneklerin %57'sinde *Str. faecalis* sayısını $<100/g$, %19'unda $10^2-10^3/g$ ve %24'ünde $<10^3/g$ olarak tesbit etmiş ve standart sayıyı $10^2-5 \times 10^3/g$ olarak bildirilmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucu Streptokok sayısı bölgelere göre istatistiki olarak önemli bir farklılık göstermemiştir ($P>0.05$). Genellikle şehir merkezinden uzak bölgelerde daha yüksek sayıda bulunmaktadır.

Aylar arasında ise Fekal Streptokokların sayısı önemli farklılık göstermiştir ($P<0.05$). Tukey testine göre Temmuz ayı ile Ağustos ve Ekim ayı arasında önemli farklılık bulunmuştur. Temmuz ve Ağustos aylarında artış, Ekim ve Ocak ayında ise düşme görülmüştür. Fekal Streptokoklarda fekal kirlenmenin indikatörü olarak kullanılabilen bir bakteridir ve *E. coli*'nin varlığıyla aralarında iyi bir korelasyon bildirilmiştir. (Alkış, 1982). Besin maddelerinde bulunmaları hijyen yetersizliğini göstermekte ve yüksek sayıda bulunmaları halinde halk sağlığını tehdit etmektedir. (Jay, 1970). Bizim bulgularımıza göre fekal Streptokok sayısının çok yüksek olmaması sevindiricidir.

Yapılan varyans analizi sonucunda fekal Streptokok sayısı açısından bölgeler arasındaki fark önemsiz olmuştur. Aylar arasında ise önemli farklılık ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey testine göre Temmuz ayı ile Ağustos ve Ekim ayı arasında önemli farklılık bulunmuştur.

4.1.10. Maya ve Küf sayısı

Maya-Küf sayısı $10^2-10^7/g$ arasında değişmiştir. Shoup and Oblinger (1976) kıymalar üzerinde yaptıkları çalışmada maya-küf sayısını $10^2-10^5/g$ arasında bulmuşlar ancak bunların kıymaların bozulmasında önemli rollerinin olmadığını bildirmişlerdir. Bunun diğer doğal flora elemanlarıyla rekabet edememelerinden kaynaklandığını belirtilmiştir.

(Shoup and Oblinger, 1976; Walker, 1977; Anderson 1987).

Maya ve küf sayısı açısından bölgeler ve aylar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Küflerin bir çoğu mikotoksin yapmaları ve patojen olmaları nedeniyle et ve et ürünlerinde önem taşımaktadır. Ancak etlerdeki bozulmada mayaların küçük bir rolü bulunmaktadır. Fakat özel koşullar altında önemli bozulmalar meydana getirebilecekleri unutulmamalıdır (Bryan, 1988).

Sonuç olarak TABS, psikrofilik bakteri sayısının yüksek bulunması sanitasyon koşullarının yerine getirilmediğini, uygun şartlar altında bu bakterilerin hızla çoğalarak etlerin bozulmasına neden olacağı, böylece besin değerinin düşeceği ve aynı zamanda maddi kayıplara neden olabileceği belirlenmiştir. Koliform grubu bakterilerin, *E. coli* ve fekal Streptokokların örneklerin büyük bir kısmından izole edilmesi ve oldukça yüksek sayıda olmaları fekal kontaminasyonun işareti olup, kesimhane ve kasap dükkanlarında temizliğe önem verilmediği ayrıca çalışanların da hijyenik kurallara uymadığı belirlenmiştir. Koagülaz + *S. aureus*, *Salmonella-Shigella*, *C. perfringens*'in az da olsa örneklerden izole edilmesi, besin zehirlenmesi ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlikenin varlığını işaret etmektedir. Bu nedenle ülkemiz koşullarına uygun bakteriyolojik standartların belirlenerek en kısa zamanda uygulamaya konulması ve et vb. besin maddelerinin üretimini yapan işletmelerin daha düzenli ve ciddi bir şekilde kontrollerinin yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adelbrecht, G.,1989, EWG-Regelung bei Hacfleisch, Fleischwirtsch, 69(12): 1784-1791p.
- Adesiyun, A.,A., 1984, Entarotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolatet from Nigerian Ready-to-Eat Foods, J. Food Protec.,47(6):438-440p.
- Akıllı, A., 1982-1983, Ankara'da süpermarketlerde satılan hazır kıymaların mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri ile ilgili tek turnaklı hayvan etleri yönünden incelenmesi üzerine araştırmalar, Etlik Vet. Mikrobiol. Enst. Derg., 5(4-5): 125-157s.
- Akın, A. ve Kaya, B., 1988, Ankara'da satılan etlerin mikrobiyolojik kalite kontrolü: 1-Kıymaların Mikrobiyolojik kalite kontrolü, Doğa TÜ. Tıp ve Ecz. Derg. 12(3): 183-189s.
- Alkış, N., Gıda Mikrobiyolojisi, 1982, SSBYB Yayınları.
- Anderson, A.W., 1987, The significance of Yeasts and Moulds in Foods, Food Technol. 47-51p.
- Başeğmez, Z.,1988, Bursa piyasasında satılan et ve bazı et ürünlerininKimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniv. Sağlık Bilimleri Enst. Besin Hijyeni Teknolojisi Anabilim Dalı, Bursa.
- Bryan, F.L., 1988, Risks associated with the vehicles of foodborne pathogens and toxins, J. Food Protec. ,51(6):498-508p.
- Carl, K.E., 1975, Oregon's experience with microbiological standarts for meat, J.Milk Food Technol.,38(8): 483-486p.
- Carter, G.R.,D.V.M,M.S,D.V.Sc. 1973, Diagnostic procedures in Veterinary Microbiology, Clinical Microbiology Laboratory Department of Microbiology and Public Health, Michigan State Univercyty, East Lancing, Michigan.
- Chambers, J.V. et al., 1976, A microbiological survey of raw ground beef in Ohio, J. Milk Food Technol., 38(8):530-535p.
- Cyzeska, F.J. et al., 1981, Culture medium for isolaton and enumeration of Gram Negative Bacteria from ground meats, Appl. and Environ. Microbiol. 42(2):303-307p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- Çömlekçi, N., 1988, Deneysel Tasarımı ve Çözümlemesi, Anadolu Üniv. Basımevi, Eskişehir, 312s.
- D'aoust, J.Y., 1984, Effective enrichment-plating conditions for detection of *Salmonella* in foods, J.Food Protec., 47(8):588-590p.
- Duitschauer, C.L. et al.,1977, Bacteriological evaluation of retail ground beef frozenbeef patties and cooked hamburger, J.Food Protec.,40(6):378-371p.
- Edwards, P.R., Ewing, W.H., 1966, Identification of *Enterobacteriaceae*, Atlanta, Georgia.
- Emswiller, B.S. et al., 1976, Bacteriological quality and shelf life of ground beef, Appl. and Environ. Microbiol., 31(6):826-830p.
- Fishbein, M., et al., 1976, Coliforms, Fecal Coliforms, *E. coli* and Enteropathogenic *E. coli* " In In Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" Ed. M.L. Speck, American Public Health Association, Washington, D. C.
- Foster,J.F., et al.,1977, A bacteriological survey of raw ground beef, J. Food Prot., 40(11):790-794p.
- Frazier, W.C.and Westhoff, D.C., 1978, Food Microbiolgy, Mc Graw-Hill Book Company, 540p.
- Fricke, C.R., 1987, The isolation of *Salmonellas* and *Campylobacters*, J. Appl. Bacteriology, 63: 99-116p.
- Fruin, J.T. et al., Survey of the bacterial population of Bologna Products, J. Food Protec., 41(9): 692-695, 1978p.
- Gilliand, S.E., et al., 1976, Psychrotrophic Microorganisms "In Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" Ed. M.L. Speck, American Public Health Association, Washington, D. C.
- Goepfert, J.M. and Kim, H.U., 1975, Behavior of selected Food-borne pathogens in raw ground beef, J. Milk Food Protec. 38(8):449-452, 1975p.
- Goepfert, J.M., 1976, The Aerobic Plate Count, Coliform and *E. coli* content of raw ground beef at the retail level, J. Milk Food Technol., 39(3): 175-178p.
- Göğüş, A. K.,1986, Et Teknolojisi, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay.991; 243s.
- Gökten, D. ve Tuncel, G., 1988, Effect of ingredients on quantitative recovery

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- of *Salmonella* in raw meat balls, Meat Science, 22(000-000):1-6p.
- Göktaş, D.,1990, Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi, Cilt 1: Et Mikrobiyolojisi, Ege Üniv. Basımevi, Bornova ,İzmir, 292s.
- Holland, G.C., 1979, Quality standarts for retail meats, J. Food Protec., 42(8): 675-678p.
- Jay, J. M., 1970, Modern Food Microbiology, Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA, 328p.
- Jay, J. M., 1972, Mechanism and detection of microbial spoilage in meats at low temperatures: A status report, J. Milk Food Technol. 35(8):467-471p.
- Karim, G.,1977, Bacteriological, quality of raw and cooked hamburger at the retail level in Tehran, J. Food Protec., 40(8): 560-561P.
- Kim, H. and Göpfert, J. M., 1971, Enumeration and identification of *Bacillus cereus* in foods, Appl. Microbiol., 22(4):581-587p.
- Koburger, J. A., 1976, Yeasts and Molds, " In Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" Ed. M.L. Speck, American Public Health Association, Washington, D. C.
- Lammerding et al, 1988, Prevalance of *Salmonella* and Thermofilic *Campylobacter* in fresh Pork Beef, veal and poultry in Canada , J. Food Protec.,51(1): 47-52p.
- Lewis, K.H. and Angelotti, R., 1979, Examination of Foods for Enteropathogenic and Indicator Bacteria , Rewiew of Methodology and Manual of Selected Procedures, US Department of Health, Education and Welfare., Public Health Service, Meat Industry Research Institue zof New Zealand Inc. Proceedings of the Microbiological Methods Workshop, 18th- 20th Sept.
- Mates,A., 1983, Microbiological survey of frozen ground meat and a proposed standard, J. Food Protec., 46(2): 87-89p.
- Mercuri A.J. and Cox, N.A.,1979, Coliforms and Enterobacteriaceae isolates from selected foods, J. Food Protec., 42(9):712-714p.
- Nickerson, J.T. and Sinskey, A.J., 1974, Microbiology of Foods and Food Processing, American Elsevier Publishing Company, New York, 306p.
- Nwosu,V.C., 1985, Prevalance of Coagulase positive Staphylococcus in Market

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- Meats in Awka, J. Food Protec.,48(7): 603-605p.
- Pivnic, H. et al.,1976, Purposed microbiological standarts for ground beef based on a Canadian survey, J. Milk Food Protec., 39(6):408-412p.
- Sarıgöl,C., 1982, Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar, Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg.,7(1-2):179-186s.
- Shoub, J.I.and Oblinger, J. L., 1976, Microbial evaluation of retail ground beef: Centralized and traditional preparation 1., J. Milk Food Protec., 39 (3) :179-183p.
- Silliker, J.H.,1986, *Salmonella*, Food Technol., August, 24-25p.
- Speck, M.L., 1976, Compendium methods for the microbiological examination of foods,American Public Health, Association, Washington D.C.USA.
- Sperber, W.H. and Tatini, S.R., 1976 Interpretation of the Tube Coagulase Test for identification of *Staphylococcus aureus*, Appl. Microbiol., 29(4): 502-505p.
- Sumner, J.L., 1978, Microbiological evaluation of retail ground beef in İzmir, Turkey, J. Food Protec.,41(2):104-106p.
- Surkiewicz, B.F. et al., 1975, Bacteriological survey of raw beef patties produced at establishment under federal inspection, Appl. Microbiol., 29(3):331-334p
- Tatini, S.R et al., 1976, Screening for Staphylococcal enterotoxins in foods, Food Technol., 64-73p.
- Tekinşen, O.C., vd, 1980, Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi, A.Ü. Vet. Fak. Derg.,2,7(1-2), 45-63s.
- Thatcher, F.S. and Clark, D.S., 1973, Miroorganism in Foods: Their Significance and Methods of Enumeration, Univ. of Toronto Press, Canada, 234p.
- Yetim., H. 1985, Erzurum piyasasında tüketime sunulan sığır kıymalarının bazı saprofit ve bir kısım patojen bakteriler yönünden incelenmesi, Atatürk Üniv., Fen Bilimleri Enst. Tarım Ürünleri ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Yıldırım, Y.,1978, Et ve beslenmemizdeki önemi, Gıda Bil. ve Tek. Derg., I(1):30-45s.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- Yıldırım, Y., 1984., Et Endüstrisi, Yaylacık Matbaası, Bursa, 661s.
- Yıldırım, Y., 1987, Et Mikrobiyolojisi Hijyen ve Kimyası, Uludağ Üniv. Basımevi, 167s.
- Yıldırım, Y., 1988, Et Teknolojisi, Yıldırım Basımevi, İstanbul,305s.
- Yücel, A., 1978, Yerde ve askıda yüzülen sığır gövde etlerinin mikrobiyal kontaminasyon durumları ile ilgili araştırmalar, Gıda Bil. ve Tek. Derg. I(1): 20-29s.
- Yücel, A. ve Karaca, Z., 1989, Bursa'da süpermarketlerde tüketime sunulan hazır kıymaların içerdiği yağ oranı, kokuşma ve yabancı doku içeriği üzerinde rutin çalışma, Gıda Derg., 14(2):71-76s.
- Walker, H.W., 1977, Spoilage of food by yeasts, Food Technol., 57-61s.
- Westhoff, D. and Feildstein, F., 1976, Bacteriological analiysis of ground beef, J. Milk Food Technol., 39(6):401-404s.
- Winslow, R.L., 1975, A retailers experience with Oregon bacterial standart for meat, J. Milk Food Tech., 38(8): 487-489p.
- Wyatt, C.J., and Guy, V., 1980, Relationships of microbiological quality of retail meat samples and sanitary conditions 1, J. Food Protec., 43(5):385-389p.